

Analysengang zur Ermittlung von Pestizidrückständen in Pflanzenmaterial

Eine Schnellmethode für die Lebensmittelüberwachung

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia legendi
an der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Dr. Hans-Peter Thier

1972 # 410



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548610_0019

Analysengang zur Ermittlung von Pestizidrückständen in Pflanzenmaterial

Eine Schnellmethode für die Lebensmittelüberwachung

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi
an der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg



vorgelegt

von

Dr. Hans-Peter Thier



Dekan: Professor Dr. K. Jacobs

1. Berichterstatter: Professor Dr. O. Dann

2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Hofmann

3. Berichterstatter: Professor Dr. L. Acker, Münster

Tag des Probevortrages: 9. Mai 1972

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1968 bis Juli 1971 im Institut für Angewandte Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg ausgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. O. D a n n, danke ich herzlich dafür, daß er durch seine großzügige Förderung die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte und ihren Fortgang stets mit Interesse verfolgte.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

<u>Zusammenfassung</u>	1
1. <u>Ausgangspunkt und Zielsetzung der Untersuchungen</u>	2
1.1. Einleitung und rechtliche Vorschriften	2
1.2. Probleme der Rückstandsanalyse in der Lebensmittelüberwachung	4
1.3. Ziele des eigenen Verfahrens	8
1.3.1. Aufarbeitung	8
1.3.2. Nachweis und Bestimmung	9
1.3.3. Umfang der Untersuchungen	9
2. <u>Extraktion und Reinigung der Extrakte zum Nachweis neutraler Pestizide</u>	21
2.1. Prinzip bisheriger Arbeiten	21
2.1.1. Extraktion	21
2.1.2. Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln	22
2.1.3. Säulenchromatographie	24
2.2. Eigene Ergebnisse	26
2.2.1. Aufarbeitung I	26
2.2.2. Aufarbeitung II	28
2.2.3. Säulenchromatographie	31
2.2.4. Ausbeute in Zusatzversuchen	41
2.2.5. Überprüfung des Verfahrens	46
3. <u>Extraktion und Reinigung der Extrakte zum Nachweis saurer und neutraler Pestizide nebeneinander</u>	50
3.1. Prinzip bisheriger Arbeiten	50
3.2. Eigene Ergebnisse	51

3. 2. 1.	Aufarbeitung I	51
3. 2. 2.	Aufarbeitung II	53
3. 2. 3.	Methylierung	55
3. 2. 4.	Säulenchromatographie	56
3. 2. 5.	Ausbeute bei Zusatzversuchen	56
4.	<u>Nachweis und Bestimmung der Pestizide</u>	58
4. 1.	Gaschromatographie	58
4. 1. 1.	Trennsäulen	58
4. 1. 2.	Nachweisempfindlichkeit	60
4. 1. 3.	Möglichkeit der Temperaturprogrammierung ...	61
4. 2.	Dünnschichtchromatographie	61
5.	<u>Herstellung von Derivaten der Pestizide</u>	68
5. 1.	Möglichkeit der Derivatbildung	68
5. 2.	Anforderungen an die Analysenmethode	69
5. 3.	Herstellung von Bromderivaten	70
5. 4.	Bromderivate der einzelnen Wirkstoffgruppen	71
5. 4. 1.	Carbanilsäureester	71
5. 4. 2.	Harnstoffe	75
5. 4. 3.	Anilide	79
5. 4. 4.	Piperonylbutoxid	81
5. 4. 5.	Säuren	83
5. 4. 6.	N-Methylcarbamate	86
5. 5.	Aufarbeitung der Ansätze	91
5. 6.	Störungen durch Verunreinigungen	92
5. 7.	Störungen durch Rückstände anderer Pestizide	93
6.	<u>Arbeitsvorschriften für die Rückstandsanalyse</u> <u>neutraler Pestizide</u>	97
	Reagentien und Geräte	97

6.1.	Extraktion	99
6.2.	Aufarbeitung der Extrakte	99
6.2.1.	Methode I	99
6.2.2.	Methode II	100
6.3.	Säulenchromatographie an Florisil	100
6.4.	Gaschromatographie mit dem ECD	102
6.4.1.	Gerätebedingungen	102
6.4.2.	Arbeitsweise und Auswertung	103
6.5.	Dünnschichtchromatographie	107
6.6.	Analyse von Bromderivaten	116
6.6.1.	Herstellung der Derivate	116
6.6.1.1	Methode A	116
6.6.1.2	Methode B	116
6.6.1.3	Verfahren für N-Methylcarbamate .	117
6.6.2.	Gaschromatographie mit dem ECD	118
7.	<u>Arbeitsvorschriften für die Rückstandsanalyse saurer</u> <u>Pestizide in Anwesenheit neutraler Verbindungen</u>	122
	Reagentien und Geräte	122
7.1.	Extraktion	123
7.2.	Aufarbeitung der Extrakte	123
7.2.1.	Methode I/1	123
7.2.2.	Methode I/2	124
7.2.3.	Methode II	125
7.2.4.	Methylierung	126
7.3.	Säulenchromatographie an Florisil	126
7.4.	Gaschromatographie mit dem ECD	127
7.5.	Dünnschichtchromatographie	129
7.6.	Analyse von Bromderivaten	130
7.6.1.	Herstellung der Derivate	130
7.6.1.1	Methode A	130
7.6.1.2	Verfahren für NAA und NOA	131
7.6.2.	Gaschromatographie mit dem ECD	131

8.	<u>Präparative Darstellung der Bromderivate</u>	133
	Allgemeine Angaben	133
8. 1.	Bromierungsmethode A (präparativer Maßstab)	134
8. 2.	Bromierungsmethode B (präparativer Maßstab)	134
8. 3-7.	Derivate der Carbanilsäureester	135
8. 8-14.	Derivate der Harnstoffe	137
8. 15-19.	Derivate der Anilide	140
8. 20.	Derivat des Piperonylbutoxids	142
8. 21-26.	Derivate der Säuren	143
8. 27-31.	Derivate der N-Methylcarbamate	146
9.	<u>Literaturverzeichnis</u>	149

ZUSAMMENFASSUNG

Eine Analysenmethode zur Identifizierung und Bestimmung von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in Obst und Gemüse wird beschrieben, die besonders für routinemäßige Untersuchungen im Rahmen der Lebensmittelüberwachung geeignet ist.

Die Aufarbeitung des Pflanzenmaterials erfolgt durch Extraktion mit Acetonitril, Verteilung zwischen Acetonitril, wäßriger Kochsalzlösung und Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) sowie Säulenchromatographie an Florisil. Sie erfordert nur geringen Aufwand an Arbeit und Zeit und erlaubt es, die Rückstände aller 104 untersuchten unpolaren und polaren, neutralen und sauren Pestizide durch eine systematische Auftrennung zu erfassen.

Die gereinigten Extrakte werden gaschromatographisch mit dem Elektroneneinfangdetektor sowie dünnschichtchromatographisch untersucht. 22 Insektizide und Herbizide werden der Analyse mit dem Elektroneneinfangdetektor dadurch zugänglich gemacht, daß auf einfache Weise geeignete Bromderivate dieser Verbindungen hergestellt werden.

1. Ausgangspunkt und Zielsetzung der Untersuchungen

1.1. Einleitung und rechtliche Vorschriften

Die starke Zunahme der Weltbevölkerung zwingt dazu, die verfügbaren landwirtschaftlichen Flächen intensiver zu nutzen und gleichzeitig die Ernten und Vorräte durch Pflanzenschutzmaßnahmen zu sichern. Die größte Rolle spielen dabei die chemischen Pflanzenschutzmittel (Pestizide). Sie dienen dazu, die Nutzpflanzen und Vorräte vor Verlusten durch Krankheiten und Schädlinge zu schützen und auf diese Weise die Ernteerträge und die Qualität der landwirtschaftlichen Produkte zu steigern. Außerdem ermöglichen sie rationellere Anbaumaßnahmen und die Einsparung von Arbeitskräften.

Alle Pflanzenschutzmittel sollen in das biologische Geschehen eingreifen, indem sie z. B. als Insektizide oder Akarizide tierische Schädlinge, als Fungizide Pilzkrankheiten oder als Herbizide unerwünschte, den Anbau der Kulturpflanzen störende Unkräuter bekämpfen. Dies setzt eine mehr oder weniger toxische Wirkung voraus.

Die Zahl der Wirkstoffe ¹⁾, die sich heute auf dem Markt befinden, ist bereits sehr hoch. So dürfen allein in der Bundesrepublik Deutschland (BRD) auf Grund der Zulassung durch die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) rund 140 Pflanzenschutzmittel angewendet werden ^{2,3)}; die Zahl der Handelspräparate ist wesentlich höher. Ihre Giftigkeit für den Menschen variiert innerhalb weiter Grenzen und reicht von fast ungiftigen bis zu äußerst toxischen Verbindungen, die schon in kleinsten Mengen wirksam sind.

Unmittelbar nach dem Ausbringen der Pestizide befinden sich naturgemäß beträchtliche Wirkstoffmengen auf den behandelten Pflanzen. Unter dem

Einfluß der Witterungsbedingungen und durch den Abbau im Pflanzengewebe nimmt ihre Menge mehr oder weniger schnell ab ^{4,5)}. Bestimmte Verbindungen, vor allem die Chlorkohlenwasserstoffe, haben eine große Haltbarkeit in Pflanzen und in Böden, aus denen sie noch nach Jahren in Nachbaukulturen übergehen können. Andere Wirkstoffe, z. B. zahlreiche Phosphorsäureester, werden erheblich rascher abgebaut und verschwinden meist innerhalb weniger Tage.

Um einen ausreichenden Abbau der Rückstände zu gewährleisten, sind von amtlicher Seite entsprechende Wartezeiten vorgeschrieben, die zwischen der letzten Anwendung eines Pflanzenschutzmittels bis zur Ernte verstreichen müssen. Listen solcher Wartezeiten werden in der Bundesrepublik regelmäßig von der BBA veröffentlicht ³⁾ und vom amtlichen Pflanzenschutzdienst verbreitet.

Die Pflanzen oder Pflanzenteile, die als Lebensmittel verzehrt werden, dürfen nur noch Pestizidrückstände enthalten, die nach dem derzeitigen Wissensstand gesundheitlich völlig unbedenklich sind. Solche zulässigen Höchstmengen (Toleranzen) werden auf Grund der chronischen Toxizität der Wirkstoffe im Tierversuch und an Hand der anwendungstechnischen Möglichkeiten errechnet. In der BRD sind durch die Höchstmengen-Verordnung ⁶⁾ Toleranzwerte für 78 Pestizide in Obst, Gemüse und Getreide festgelegt worden, wobei die zulässigen Mengen zwischen 0,01 und 15 ppm liegen. Für weitere 14 Pflanzenschutzmittel hat man aus toxikologischen Gründen die Toleranz "Null" festgesetzt, was besagt, daß mit den derzeit empfindlichsten Analysemethoden keine Rückstände nachweisbar sein dürfen. Das gleiche gilt für Lebensmittel, die für Säuglinge und Kleinkinder bestimmt sind; sie dürfen nach der Verordnung über diätetische Lebensmittel ⁷⁾ keine Rückstände irgendwelcher Pestizide enthalten. Derartige Nulltoleranzen werfen zahlreiche analytische und rechtliche Probleme auf; man neigt daher dazu, einen Rückstandsgehalt unter 0,01 ppm in Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft nicht zu be-

anstanden.

Viele Staaten haben bisher ähnliche Regelungen getroffen und zulässige Höchstmengen für verschiedene Pestizide festgelegt. Die Zahlenwerte stimmen zwar häufig nicht genau mit den Toleranzen überein, die in der Bundesrepublik gelten. Sie sollen jedoch in den nächsten Jahren durch internationale Vereinbarungen vereinheitlicht werden.

Auf Grund der Höchstmengen-Verordnung sind die staatlichen und kommunalen Untersuchungsanstalten verpflichtet, die Rückstände der Pestizide in Lebensmitteln zu kontrollieren. Sie entnehmen regelmäßig Stichproben auf den Großmärkten und im Einzelhandel und überprüfen, ob die zulässigen Toleranzen eingehalten werden. Aber auch die Lebensmittelhersteller müssen dafür sorgen, daß ihre Erzeugnisse den rechtlichen Vorschriften entsprechen. Zur allgemeinen Sorgfaltspflicht für den Anbauer gehört die sachgerechte Anwendung der Pflanzenschutzmittel und die Einhaltung der Wartezeiten, während die lebensmittelverarbeitende Industrie in zumutbarem Rahmen auch chemische Untersuchungen ihrer Rohstoffe oder Fertigprodukte durchführen muß.

1.2. Probleme der Rückstandsanalyse in der Lebensmittelüberwachung

Die Pestizidrückstände, die in Obst und Gemüse zu erwarten sind, liegen in der Regel zwischen 0,01 und 1 ppm. Die Untersuchung ist daher eine organische Spurenanalyse, die analytisches Geschick, eine gewisse Erfahrung und eine kritische Deutung der Ergebnisse erfordert. Gemeinsam ist allen Analysenverfahren, daß die geringen Mengen der Pestizide zunächst von einem großen Überschuß natürlicher Pflanzeninhaltsstoffe abgetrennt und anschließend mit Hilfe hochempfindlicher und selektiver Nachweisverfahren identifiziert und quantitativ bestimmt werden.

Wenn die Vorgeschichte der Proben bekannt ist, ist es nur nötig, den Gehalt der Probe an den verwendeten Pestiziden zu bestimmen. Hier stehen dem Analytiker zahlreiche, gut ausgearbeitete Methoden ^{8, 9, 10, 11)} zur Verfügung, die jeweils für einen Wirkstoff spezifisch sind: Nach der selektiven Reinigung der Pflanzenextrakte bestimmt man die Rückstände meist durch eine Farbreaktion, die spektralphotometrisch ausgewertet wird.

In der Regel ist jedoch die Vorgeschichte der Proben nicht bekannt. Die chemischen Untersuchungsanstalten, die die Marktkontrollen durchführen, und die Industrielaboratorien, die Rohstoffe fremder Herkunft beurteilen müssen, stehen deshalb vor erheblichen analytischen Schwierigkeiten.

Durch die Analyse sollten mindestens die Rückstände all der Pestizide erfaßt werden, für die in der Höchstmengen-Verordnung Toleranzwerte festgelegt sind. Dies sind jedoch bei weitem nicht alle Wirkstoffe, die in den Lebensmitteln vorliegen können. Allein in der BRD sind wesentlich mehr Pestizide zur Verwendung in der Landwirtschaft zugelassen; dazu kommen Verbindungen, die nur im Ausland angewendet werden und dann in Importgütern vorkommen können. Bei einer umfassenden Untersuchung, die dem Schutz des Verbrauchers dienen soll, müßte deshalb auch auf Restmengen aller übrigen Substanzen geprüft werden.

Trotz des großen Umfangs der Untersuchung sollten die Ergebnisse so rasch vorliegen, daß man Lebensmittel, deren Pestizidgehalt die Toleranzwerte übersteigt, noch rechtzeitig aus dem Verkehr ziehen oder ihre Weiterverarbeitung verhindern kann.

Gleichzeitig erwartet man von einem Überwachungslabor, daß es pro Arbeitstag eine größere Anzahl von Proben bewältigen kann.

Diese Aufgabe einer umfassenden und gleichzeitig schnellen Spurenanalyse ist kaum zu lösen, sondern kann nur zu Kompromissen führen. In der heutigen Praxis beschränkt man deshalb die routinemäßige Untersuchung auf die Rückstände der Chlorkohlenwasserstoffe und einiger unpolarer Phos-

phorsäureester. Das ist sinnvoll, denn man erfaßt auf diese Weise zahlreiche Insektizide, die toxikologisch recht bedenklich sind und für die zum Teil Nulltoleranzen festgesetzt sind.

Der Hauptgrund für diese Auswahl ist aber, daß nur für diese beiden Gruppen zuverlässige Arbeitsmethoden bekannt sind, mit denen man in einem Arbeitsgang gleichzeitig eine größere Anzahl von Wirkstoffen nachweisen und bestimmen kann ^{11, 12, 13}). Man verwendet dabei Aufarbeitungs- methoden, die in kurzer Zeit recht reine Extrakte liefern, und weist die Rückstände gaschromatographisch mit spezifischen Detektoren oder dünnschicht- chromatographisch nach.

Es sind zwar auch Analysenverfahren veröffentlicht worden, mit denen andere Wirkstoffgruppen bestimmt werden können ^{14, 15, 16}). Jede derartige Methode verlangt aber andere Arbeitsweisen bei der Aufarbeitung der Proben und der Identifizierung der Rückstände und damit jeweils neue eigene Erfahrungen. Der so entstehende Arbeitsaufwand kann von den Überwachungs laboratorien nicht bewältigt werden.

Dazu kommt das Problem, daß jedes veröffentlichte Verfahren zum Nachweis einer einzelnen Wirkstoffgruppe nur für die Pestizide geeignet ist, die dort bearbeitet wurden. Fast nie wird in der Literatur angegeben, wie sich die Anwesenheit von Wirkstoffen aus einer anderen Gruppe auf das beschriebene Verfahren auswirkt. Will man mehrere solche Gruppenmethoden nebeneinander verwenden, so muß man zur Vermeidung von Fehlinterpretationen zunächst die verschiedenen Störungsmöglichkeiten ermitteln. Auch das geht über den Rahmen eines Routinelabors hinaus.

Ein weiterer Grund, warum in der heutigen Untersuchungspraxis nur eine beschränkte Anzahl von Pestiziden kontrolliert wird, ist die begrenzte Auswahl spezifischer Detektoren bei der Gaschromatographie ¹⁷). Die größte Verbreitung hat der Elektroneneinfangdetektor (ECD) ge-

funden, der besonders gut auf Halogenatome und Nitrogruppen anspricht und mit dem man vor allem die Chlorkohlenwasserstoffe ausgezeichnet nachweisen kann. Viele Laboratorien arbeiten außerdem mit dem Phosphor-detektor (PD, alkali flame thermionic detector), einem modifizierten Flammenionisationsdetektor, der durch einen Alkalihalogenid-Kristall in der Flamme extrem für Phosphor sensibilisiert ist; er erlaubt den Nachweis all der Phosphorsäureester, die nicht schon durch den ECD erfaßt werden können.

Gaschromatographen mit einem ECD oder mit der Kombination von ECD und PD arbeiten heute in allen Laboratorien, in denen routinemäßig Rückstandsanalysen durchgeführt werden. Die Geräte sind in der Regel nur für den Betrieb mit zwei Detektoren vorgesehen. Will man einen anderen Detektor einbauen, so muß man den ECD oder den PD entfernen und das ganze Gerät für die Zeit der Umrüstung stilllegen. Dies ist aus Zeitgründen nicht erwünscht.

Wegen dieser praktischen Schwierigkeiten hat auch ein neu entwickelter Detektor, der besonders gut auf Stickstoff anspricht, noch keinen Eingang in die Praxis der Lebensmittelüberwachung gefunden. Er ist zudem noch nicht ideal für den Routinebetrieb: Wenn Moleküle mit nur ein bis zwei Stickstoffatomen in höchster Empfindlichkeit nachgewiesen werden sollen, so müssen die Strömungsgeschwindigkeiten der einzelnen Gase häufig äußerst genau und im Verhältnis zueinander optimal eingestellt werden.

Ob neue und vielseitiger anwendbare Detektoren wie z.B. der Flammenphotometer-Detektor Eingang in die Routinelaboratorien finden werden, können erst die kommenden Jahre zeigen.

1.3. Ziele des eigenen Verfahrens

Wie oben geschildert wurde, werden die Lebensmittel in den Überwachungs-laboratorien meist nur auf Rückstände von Chlorkohlenwasserstoffen und Phosphorsäureestern geprüft, weil geeignete, weitergehende Analysenmethoden fehlen. Diese Situation ist unbefriedigend. Es sollte daher ein Analysenverfahren gefunden werden, das ohne wesentlich größeren Aufwand an Arbeit und Zeit die Identifizierung und Bestimmung der Rückstände einer größeren Anzahl von Pestiziden erlaubt.

1.3.1. Aufarbeitung

Zunächst war ein brauchbares Verfahren zur Aufarbeitung der Proben erforderlich. Es wurde davon ausgegangen, daß die meisten Rückstandsanalytiker bereits jahrelange Erfahrungen mit den herkömmlichen Analysenmethoden besitzen. Wenn es von den Wirkstoffen her möglich war, sollte man also besser eine der bekannten Methoden erweitern und verbessern, anstatt neue Arbeitstechniken einzuführen. Dies hätte den Vorteil, daß die bisherigen Erfahrungen weiter genutzt werden können und daß die Hilfskräfte nicht in eine neue Methodik eingearbeitet werden müssen. Bei Verwendung ähnlicher Lösungsmittel und Reagentien wie bisher würden auch nur wenige neue Nebenarbeiten wie z. B. das Reinigen von Lösungsmitteln anfallen.

Außerdem war es wünschenswert, das Verfahren so flexibel zu gestalten, daß der Umfang der Untersuchungen nach Wunsch variiert werden kann. So sollte es möglich sein, die Untersuchung auf Chlorkohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester mit dem gleichen Aufwand wie bisher durchzuführen und wahlweise ohne erhebliche Mehrarbeit eine weitere Anzahl von Wirkstoffen einzubeziehen. Dazu war eine Auftrennung der Verbindungen

in verschiedene Fraktionen anzustreben, weil anders die Identifizierung auf dem beschränkten Raum eines Gas- oder Dünnschichtchromatogramms nur noch schwer möglich ist.

1.3.2. Nachweis und Bestimmung

Bei der Untersuchung der gereinigten Extrakte arbeitete man darauf hin, möglichst viele Verbindungen mit einem der beiden gebräuchlichen gaschromatographischen Detektoren ECD oder PD nachzuweisen. Der ECD war dabei vorzuziehen, da er vielseitiger anwendbar und einfacher in der Bedienung ist.

Zahlreiche Herbizide besitzen jedoch keine oder zu wenige elektroneneinfangenden Gruppen wie Halogene oder Nitrogruppen. Von diesen Verbindungen sollten deshalb geeignete Derivate gefunden werden, die dann ebenfalls mit dem ECD unter den üblichen Arbeitsbedingungen bestimmt werden können. Dazu war es nötig, Reaktionsbedingungen zu ermitteln, unter denen man gleichzeitig die Derivate einer möglichst großen Zahl von Wirkstoffen rasch und ohne großen Arbeitsaufwand herstellen kann.

1.3.3. Umfang der Untersuchungen

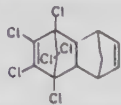
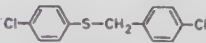
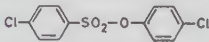
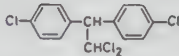
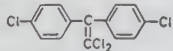
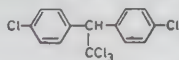
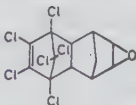
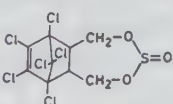
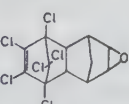
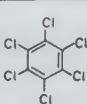
Die Pestizide, die bearbeitet wurden und sämtlich mit der eigenen Aufarbeitungsmethode erfaßt werden konnten, sind in Tabelle 1.3.3. aufgeführt.

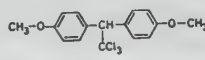
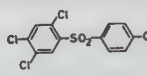
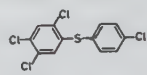
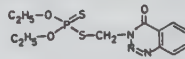
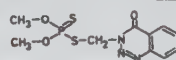
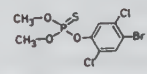
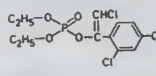
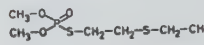
Tabelle 1.3.3.: Bearbeitete Wirkstoffe

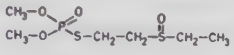
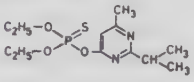
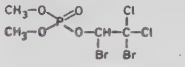
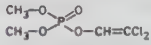
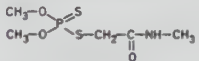
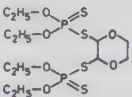
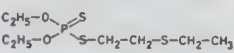
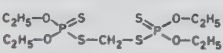
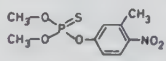
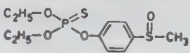
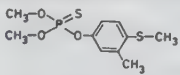
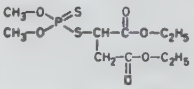
BBA	:	In der Bundesrepublik durch die BBA ³⁾ zur Anwendung zugelassen.
ppm	:	In der Höchstmengen-Verordnung ⁶⁾ aufgeführte Toleranzwerte.
Herk.	:	Herkunft der Vergleichssubstanzen. Abkürzungen:
Agl	:	Aglukon GmbH., Düsseldorf ^{+) ;}
Bay	:	Farbenfabriken Bayer AG., Leverkusen ^{+) ;}
BBA	:	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Braunschweig durch Herrn Dr. W. Weinmann ^{+) ;}
Ehr	:	Dr. S. und I. Ehrenstorfer, Augsburg, Fritz-Hintermayr-Str. 3 ;
FH	:	Farbwerke Hoechst AG., Frankfurt-Höchst;
Flu	:	Fluka AG., Buchs/SG.;
Gg	:	I. R. Geigy AG., Basel ^{+) ;}
IA	:	Institut für Angewandte Chemie, eigene Bestände;
LS	:	Chemische Landesuntersuchungsanstalt Stuttgart ^{+) ;}
Mck	:	E. Merck AG., Darmstadt;
Ort	:	Deutsche Ortho GmbH., Frankfurt ^{+) ;}
RM	:	Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg durch Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt ^{+) ;}
RP	:	Société des Usines Chimiques Rhône-Poulenc, Paris ^{+) ;}
Sch	:	Th. Schuchardt GmbH., München;
Sg	:	Schering AG., Berlin ^{+) ;}
18) - 39)	:	nach Literaturangaben selbst hergestellt ⁺⁺⁾ .

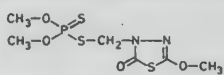
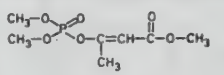
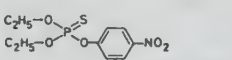
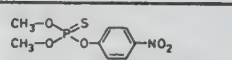
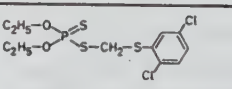
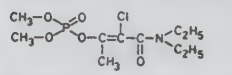
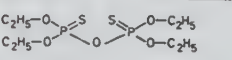
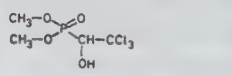
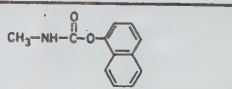
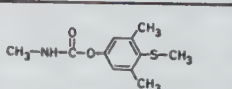
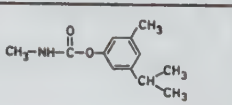
+) Allen Stellen, die mir freundlicherweise Muster von Vergleichssubstanzen überlassen haben, danke ich bestens für ihr Entgegenkommen.

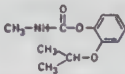
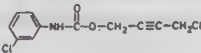
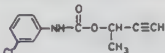
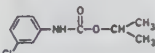
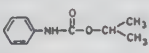
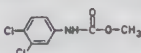
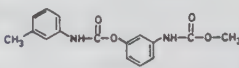
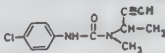
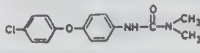
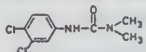
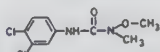
++) Für die Herstellung von 5 Harnstoffderivaten im Rahmen des Literaturpräparates danke ich Herrn stud. pharm. H. Straller.

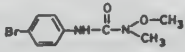
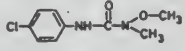
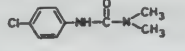
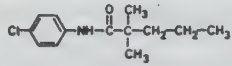
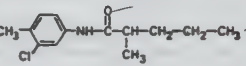
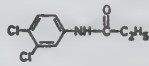
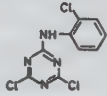
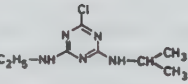
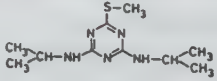
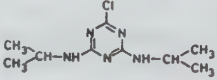
Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Chlorkohlenwasserstoffe				
Aldrin		+	0	Flu
Chlorbensid			1,5	18)
Chlorfenson			1,5	19)
DDD				Ehr
DDE				20)
DDT		+	1,0	Gg
Dieldrin		+	0	Flu
Endosulfan		+	0,5	FH
Endrin			0	Flu
HCB				RM

Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Heptachlor		+	0	LS
Heptachlor-epoxid			0	LS
Lindan		+	0,03 0,1 2,0	Bay
Methoxychlor		+	10,0	LS
Tetradifon		+	1,0	Agl
Tetrasul		+		Agl
Phosphorsäureester				
Azinphos-äthyl		+	0,4	Bay
Azinphos-methyl		+	0,4	Bay
Bromophos		+	0,1 0,2 0,5	LS
Chlorfenvinphos		+		Ehr
Demeton-methyl		+	0,4	Ehr

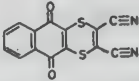
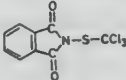
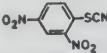
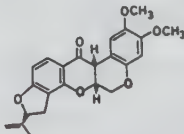
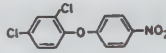
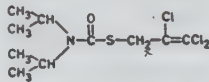
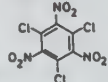
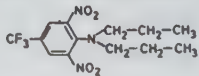
Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Demeton-methyl-sulfoxid		+	0, 4	RM
Diazinon		+	0, 5	Ehr
Dibrom		+	0, 2	Ort
Dichlorvos		+		Bay
Dimethoat		+	0, 5	RM
Dioxathion			0, 4	Ehr
Disulfoton		+	0, 2	Bay
Ethion		+		RP
Fenitrothion		+	0, 4	Bay
Fensulfothion		+		Ehr
Fenthion		+		Ehr
Malathion		+	0, 5 1, 0 3, 0	Mck

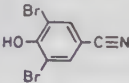
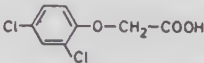
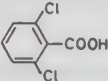
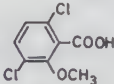
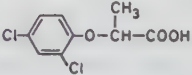
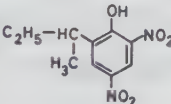
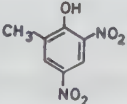
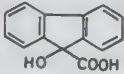
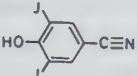
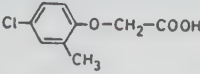
Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Methidathion		+		Ehr
Mevinphos		+	0, 1	Agf
Parathion		+	0, 5	RM
Parathion-methyl		+		RM
Phenkapton		+		Gg
Phosphamidon		+	0, 05 0, 1 0, 5	Ehr
Sulfotepp		+		Bay
Trichlorophon		+	0, 5	LS
N-Methylcarbamate				
Carbaryl		+	3, 0	21)
Mercaptodimethur		+		Bay
Promecarb		+		Sg

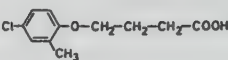
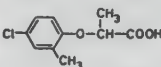
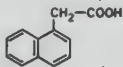
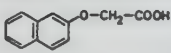
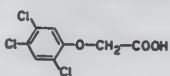
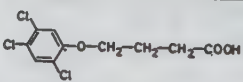
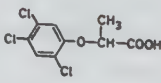
Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Propoxur		+		RM
Carbanilsäureester				
Barban		+	0, 1	RM
Chlorbufam		+		RM
Chlorpropham		+	0, 5	22)
Propham		+		Sch
Swep				23)
Phenmedipham		+		Sg
Harnstoffe				
Buturon		+		BBA
Chloroxuron		+		BBA
Diuron		+	0, 05 1, 0	24)
Linuron		+	0, 1 0, 3	25) 28)

Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Metobromuron		+		25) 26) 29)
Monolinuron		+	0, 1	25) 27)
Monuron			1, 0	24)
Anilide				
Monalide		+		Sg
Pentanochlor		+		BBA
Propanil				30)
Triazine				
Zinnochlor (Anilazin)		+		31)
Atrazin		+	0, 1 1, 0	RM
Prometryn		+	0, 05	RM
Propazin		+		RM

Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Verschiedene				
Binapacryl		+	0, 3	RM
Captan		+	15, 0	Bay
Chinomethionat		+		BBA
Chinothionat				RM
Diallat		+	0, 05	RM
Dichlobenil		+	0, 2	Sch
Dichlofluanid		+	0, 5 2, 0	LS
Dichloran				IA
Dinobuton		+		32)
Dinosebacetat		+	0, 05	33)

Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Dithianon		+		RM
Folpet		+	15,0	Ort
Quintozen		+	1,0	FH
Rhodandinitro- benzol				34)
Rotenon		+	0,04	IA
Tecnazen		+		RM
TOK (Nitrofen)				35)
Triallat		+		RM
TCTNB				FH
Trifluralin				36)

Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
Säuren, Phenole				
Bromoxynil				37)
2,4-D		+	0,05	IA
2,6-DBz				Sch
Dicamba		+		BBA
Dichlorprop		+	0,05	Sch
Dinoseb		+		Sch
DNOC		+		RM
Flurenol		+		38)
Ioxynil		+		37)
MCPA		+	0,05	Sch

Pestizid	Formel	BBA	ppm	Herk.
MCPB		+	0,1	Flu
Mecoprop		+	0,05	RM
NAA			0,1	IA
NOA				39)
PCP				Bay
2,4,5-T		+	0,01	RM
2,4,5-TB				Flu
2,3,5-TIBA				Flu
2,4,5-TP				IA

2. Extraktion und Reinigung der Extrakte zum Nachweis neutraler Pestizide

2.1. Prinzip bisheriger Arbeiten

2.1.1. Extraktion

Bei der Behandlung der Pflanzen mit Pestizidpräparaten gelangen die Wirkstoffe auf die Oberfläche der einzelnen Pflanzenteile. Die meisten Verbindungen dringen von dort aus tiefer in das Gewebe ein. Bei der Untersuchung kann man sich deshalb nur in Ausnahmefällen mit einem einfachen Abspülen der Proben begnügen; in der Regel müssen die Proben zerkleinert und dann extrahiert werden.

Das Lösungsmittel, das man zur Extraktion verwendet, sollte mit Wasser mischbar sein und einen niedrigen Siedepunkt besitzen. Polare und unpolare Wirkstoffe sollten sich zwar beide gut darin lösen, gleichzeitig sollten aber möglichst geringe Mengen von Pflanzeninhaltsstoffen mitextrahiert werden.

Diese Anforderungen werden am besten von Acetonitril und Aceton erfüllt ⁴⁰⁾. Beide Lösungsmittel haben sich bereits bei mehreren Analyseverfahren für Chlorkohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester bewährt ^{11,12,13)}. Acetonitril hat den Vorteil, daß es sich kaum mit Petroläther mischt und daß es aus Pflanzenmaterial wesentlich weniger Fette und Wachse herauslöst als Aceton. Sind derartige Lipide erst einmal in Lösung gegangen, so lassen sie sich nur schwer wieder entfernen, auch nicht durch einen Reinigungsschritt, bei dem der Abdampfrückstand des Extraktes wieder in Acetonitril gelöst wird. Nach den eigenen Erfahrungen ist es daher besser, von vornherein die Extraktion der Lipide durch Verwendung von Acetonitril zu vermeiden.

2. 1. 2. Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln

Das erste brauchbare Reinigungsverfahren war die Verteilung zwischen Acetonitril und Petroläther ⁴¹⁾. Dabei lösen sich die unpolaren Chlorkohlenwasserstoffe vor allem in Acetonitril, die Lipide dagegen in Petroläther. Verdünnt man die Acetonitrillösung mit Wasser, so kann man die Pestizide ebenfalls mit Petroläther ausschütteln und dadurch auch von wasserlöslichen Pflanzeninhaltsstoffen, besonders Farbstoffen, abtrennen.

Heute führt man diesen Reinigungsschritt gemeinsam mit der Extraktion durch. Dabei wird der Acetonitrilextrakt des Pflanzenmaterials mit der vier- bis fünffachen Menge Wasser unter Zusatz von etwas Kochsalzlösung verdünnt und mit Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherphase enthält die darin löslichen Pestizide und nur noch einen Bruchteil der mit-extrahierten Pflanzeninhaltsstoffe. Dieses Verfahren, an das sich eine Säulenchromatographie an Florisil anschließt, ist Grundlage üblicher Verfahren ^{11, 12, 13)}.

Viele Pestizide sind jedoch polarer und lassen sich nicht mit Petroläther ausschütteln. Sie bleiben in der wäßrigen Phase zurück, deren Volumen etwa 800 ml beträgt und die noch etwa 100 ml Acetonitril enthält.

In einer früheren, eigenen Arbeit ⁴²⁾ war bereits versucht worden, anschließend die übrigen Wirkstoffe aus der wäßrigen Lösung mit Methylenchlorid auszuschütteln und so eine Anzahl polarer Phosphorsäureester der Analyse zugänglich zu machen. Diese Arbeitsweise hat in einigen Laboratorien Eingang gefunden ¹³⁾, zeigte aber doch einige Nachteile.

So gingen beim Ausschütteln größere Mengen Acetonitril und Wasser aus der wäßrigen Lösung in das Methylenchlorid über. Sie mußten daraus durch Waschen mit Wasser wieder entfernt werden. Das große Volumen

der wäßrigen Phase und das Waschen des Methylenchlorids führten zu Verlusten an den gut wasserlöslichen Verbindungen, besonders an den systemischen Phosphorsäureestern. Gleichzeitig wurden durch Methylenchlorid erhebliche Mengen von Pflanzeninhaltsstoffen mit ausgeschüttelt. Sie ließen sich durch eine anschließende Säulenchromatographie an Kohle und Florisil nur mit Mühe wieder entfernen und beeinträchtigten den dünnschichtchromatographischen Nachweis.

Ähnliche Erfahrungen machten offenbar die Autoren weiterer Arbeiten^{16, 43, 45)}, in denen Harnstoffderivate oder Phosphorsäureester neben den petrolätherlöslichen Verbindungen nachgewiesen werden sollten. Die organische Phase, die man nach dem üblichen Ausschütteln des verdünnten Acetonitrilextraktes mit Petroläther durch erneutes Extrahieren mit Methylenchlorid oder Tetrachlorkohlenstoff erhielt, mußte entweder an einer zweistufigen Säule mit besonders vorgewaschenem Florisil, Magnesiumoxid und Zellulose oder an Aktivkohle gereinigt werden.

In Arbeiten aus der jüngsten Zeit^{13, 44, 118)} standen die Phosphorsäureester im Vordergrund des Interesses. Da zu ihrer gaschromatographischen Bestimmung nun der spezifische PD zur Verfügung stand, konnte man beim Aufarbeiten auf eine gleichzeitige Reinigung weitgehend verzichten: Man extrahierte mit Aceton, verdünnte mit Wasser, schüttelte mit Methylenchlorid aus und verwendete dann diese Lösung direkt oder nach Chromatographie an Kohle/Kieselgel zur Gaschromatographie. Unter diesen Arbeitsbedingungen erforderte allerdings der Nachweis der Chlorkohlenwasserstoffe mit dem ECD eine anschließende Reinigung und damit den größeren Arbeitsaufwand.

2.1.3. Säulenchromatographie

Fast alle Analysenmethoden für Pestizidrückstände bedienen sich der Säulenchromatographie ⁴⁶⁾, um die nachzuweisenden Wirkstoffe von störenden Pflanzeninhaltsstoffen abzutrennen. Verwendet werden dabei vor allem Kieselgel, Aluminiumoxid, Magnesiumoxid, Magnesiumsilikat (z.B. Florisil ^(R)) und Aktivkohle.

Kieselgel ist nur wenig zur Adsorption störender Substanzen geeignet. Man verwendet es praktisch nur, um Gemische mehrerer Pestizide oder einzelne Wirkstoffe von ihren Metaboliten zu trennen.

Mit Aluminiumoxid der Aktivitätsstufen III bis V gelingt es, wenig polare Pestizide wie z.B. die Chlorkohlenwasserstoffe durch Elution mit Petroläther von zahlreichen Pflanzeninhaltsstoffen abzutrennen. Bei höherer Aktivität des Aluminiumoxids treten häufig irreversible Adsorptionen und Zersetzungen auf. Umgekehrt nimmt der Reinigungseffekt mit sinkender Aktivität der Säulenfüllung und mit steigender Polarität des Elutionsmittels sehr rasch ab.

Die Chromatographie an Magnesiumoxid führt oft zu einer guten zusätzlichen Reinigung der Extrakte, so z.B. bei Kohlarten und verwandten Gemüsepflanzen.

Die Verwendung von Aktivkohle ist problematisch, da die Handelsprodukte recht unterschiedliche Eigenschaften haben; häufig wurden Zersetzungen und starke Adsorptionen von Pestiziden beschrieben. Die Elution mit Methylenchlorid ⁴²⁾ oder Benzol ergibt keine optimalen Ergebnisse. Ein Gemisch aus Methylenchlorid, Benzol und Aceton (5 + 1 + 1) soll den besten Kompromiß zwischen möglichst gutem Reinigungseffekt und möglichst breiter Anwendbarkeit darstellen ⁴⁴⁾. Nach eigenen Erfahrungen erhält man bei einer begrenzten Anzahl petrolätherlöslicher

Wirkstoffe die gründlichste Reinigung durch Elution mit Petroläther / Acetonitril (98,5 + 1,5) ⁴⁷⁾.

Die Entfernung von Lipiden und Farbstoffen aus Petrolätherlösungen gelingt am besten durch Chromatographie an Florisil. Dieses Verfahren wird auch bei der international üblichen Methode der AOAC ^{11, 12)} verwendet. Man eluiert dabei die Pestizide nacheinander mit Gemischen aus Petroläther und Äther im Verhältnis 94+6 , 85+15 und 50+50 aus der Säule, wobei die meisten Wirkstoffe in den ersten beiden Fraktionen erscheinen. In der zweiten Fraktion werden bereits störende Pflanzeninhaltsstoffe miteluiert, so daß gelegentlich eine Nachreinigung nötig ist.

In eigenen, früheren Versuchen ⁴²⁾ wurde dagegen zur Elution der gleichen Pestizide ein Gemisch aus Petroläther und Methylenchlorid im Verhältnis 8 + 2 verwendet, das ursprünglich zur Reinigung von Extrakten aus Milcherzeugnissen vorgeschlagen worden war ⁴⁸⁾. Es zeigte sich, daß man mit dieser Mischung eine wesentlich bessere Reinigung erzielen konnte als durch Mischungen aus Petroläther mit Äther oder anderen sauerstoffhaltigen Lösungsmitteln. Anfangs fürchteten zahlreiche Analytiker, daß beim Eindampfen des Eluats zur Trockene Wirkstoffverluste eintreten würden und daß Reste des Methylenchlorids den gaschromatographischen Nachweis mit dem ECD stören könnten. Da dies jedoch nicht der Fall war, arbeitet man heute in Deutschland meist ¹³⁾ mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2).

Vielversprechend erschien die Idee ^{49, 50)}, eine wäßrige Acetonitrillösung der Pflanzenextrakte durch eine Säule zu geben, die mit Polyäthylen beschichtetes Aluminiumoxid enthält. Das Polyäthylen sollte dabei unpolare Verunreinigungen aufnehmen, während die Pestizide bei geeigneter Acetonitrilkonzentration nicht zurückgehalten werden.

In eigenen Versuchen wurden Extrakte von 50 g Pflanzenmaterial mit 100 ml Acetonitril über die Bestimmung der Dichte auf eine Konzen-

tration von 50 % Acetonitril verdünnt. Diese Lösung gab man über eine Säule mit 6 g Polyäthylen auf Aluminiumoxid (1 + 5) ⁵⁰⁾ und eluierte mit weiteren 50 ml Acetonitril/Wasser (1 + 1). Beim anschließenden Ausschütteln mit Petroläther oder Methylenchlorid wurden alle zugesetzten Pestizide wiedergefunden, während gleichzeitig die Menge der petrolätherlöslichen Pflanzeninhaltsstoffe um rund 50 - 90 % reduziert war.

Trotzdem mußten die Petrolätherlösungen noch über eine Florisilsäule gereinigt werden. Der Reinigungseffekt mit beiden Säulen war dann jedoch nicht besser als mit der Florisilsäule allein. Auf die Verwendung des Polyäthylens wurde daher verzichtet.

2.2. Eigene Ergebnisse

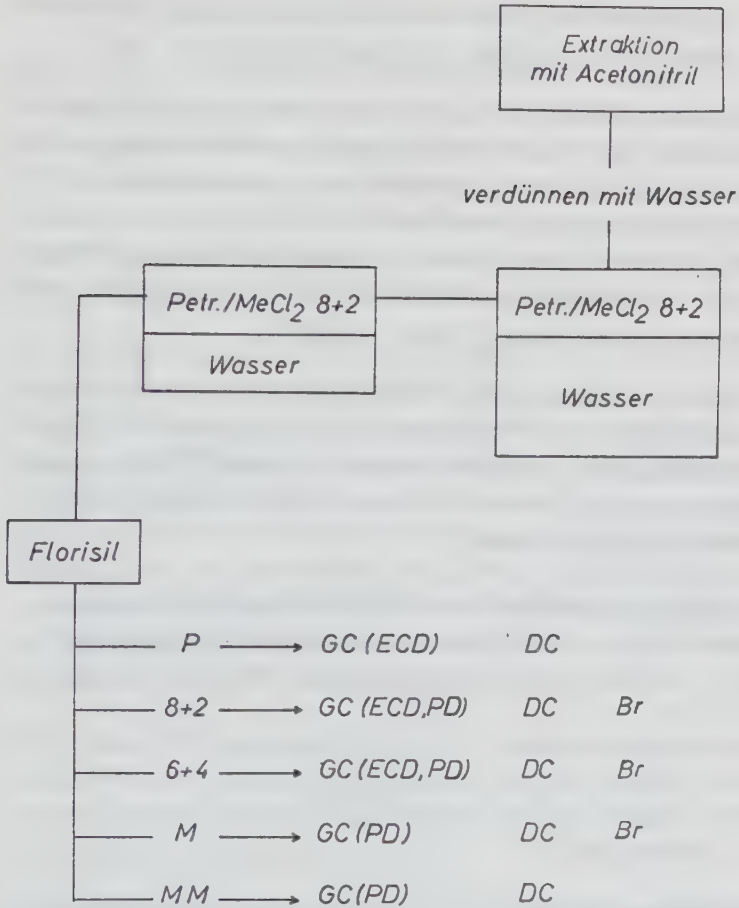
2.2.1. Aufarbeitung I

Nach den bisherigen Erfahrungen hat sich Acetonitril zur Extraktion pflanzlicher Proben am besten bewährt; es wurde deshalb auch als Extraktionsmittel für alle eigenen Versuche gewählt.

Anschließend an die Extraktion sollen möglichst alle Pestizide aus der wäßrigen Acetonitrillösung isoliert werden, ohne daß gleichzeitig größere Mengen störender Pflanzeninhaltsstoffe mit erfaßt werden.

Dies gelingt durch eine einfache Modifikation des klassischen Verfahrens ^{11,12,13)}. Man verdünnt die Extraktlösung mit der vier- bis

Schema 2, 2, 1.



fünffachen Menge Wasser und schüttelt dann nicht wie üblich mit Petroläther, sondern mit Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) aus.

Dabei gehen alle untersuchten unpolaren und polaren Pestizide in die organische Phase über, jedoch nur ein Bruchteil der Pflanzeninhaltsstoffe, die man sonst aus verdünnten Acetonitril- oder Acetonextrakten mit Methylenchlorid extrahiert. Außerdem wird von der organischen Phase nur wenig Acetonitril aufgenommen. Es genügt, die Petroläther/Methylenchlorid - Phase, ebenso wie üblicherweise die Petrolätherphase, zweimal mit dem gleichen Volumen Wasser zu waschen.

Den Rückstand, den man nach dem Trocknen und Eindampfen der Petroläther / Methylenchlorid - Lösung erhält, kann man mit dem PD direkt gaschromatographisch auf Phosphorsäureester prüfen ¹⁰⁷⁾. Zur Untersuchung mit dem ECD und zur DC ist eine weitere säulenchromatographische Reinigung notwendig.

Übersichtlich dargestellt ist diese Arbeitsweise im Schema 2.2.1., zusammen mit der anschließenden Säulenchromatographie an Florisil (2.2.3.) und den Möglichkeiten zum Nachweis der Wirkstoffe (4.1., 4.2., 5.4.).

2.2.2. Aufarbeitung II

Bei den üblichen Methoden ^{11,12,13)} und bei dem oben beschriebenen Verfahren I (2.2.1.) wird der Acetonitrilextrakt mit der vier- bis fünffachen Menge Wasser verdünnt. Extrahiert man 100 g des Probenmaterials mit 100 ml Acetonitril, so erhält man rund 160 - 170 ml Extraktlösung und nach dem Verdünnen etwa 800 ml wässrige Lösung, aus der dann die Pestizidrückstände mit jeweils 100 ml Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) extrahiert werden. Bei der Routineanalyse ist

das Arbeiten mit derart großen Volumina jedoch ziemlich störend.

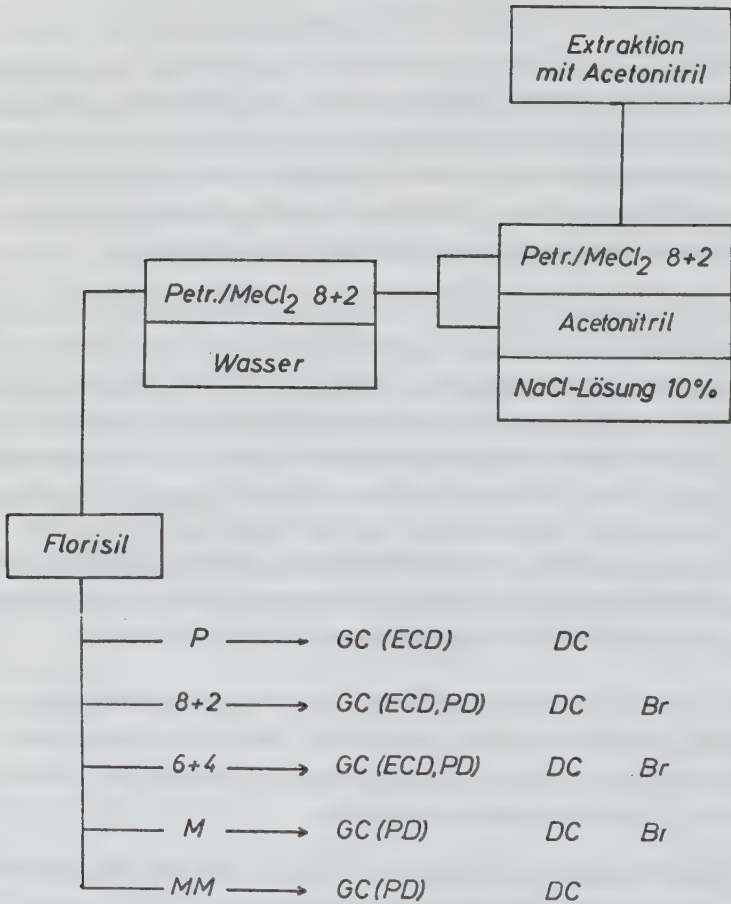
Darüber hinaus ist es eigentlich nicht recht sinnvoll, daß man die Pestizidlösung, die im Acetonitrilextrakt vorliegt, zuerst mit einer großen Menge Wasser verdünnt und dann versucht, die Wirkstoffe daraus wieder in einem organischen Lösungsmittel zu konzentrieren. Vernünftiger scheint es zu sein, den Acetonitrilextrakt mit einem organischen Lösungsmittel zu verdünnen und daraus die wäßrige Phase mit den vorwiegend wasserlöslichen Pflanzeninhaltsstoffen zu entfernen.

Dies ist möglich, wenn man wiederum die Mischung Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) verwendet. Versetzt man den Extrakt, den man von 100 g der Probe mit 100 ml Acetonitril erhält, mit nur 50 ml 10-prozent. Kochsalzlösung und 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2), so trennen sich nach dem Schütteln drei Schichten voneinander. Die beiden oberen Schichten bestehen aus Petroläther, Methylenchlorid und Acetonitril, die miteinander und mit Wasser gesättigt sind. Sie werden abgetrennt. Die unterste Schicht ist acetonitrilgesättigte, wäßrige Kochsalzlösung; sie wird noch zweimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt.

Vereinigt man die organischen Phasen, so verschwindet die Schichtentrennung und man erhält eine klare Lösung. Das überschüssige Acetonitril ist daraus durch zweimaliges Waschen mit dem gleichen Volumen Wasser ohne Schwierigkeiten zu entfernen.

Nach dem Trocknen und Eindampfen der organischen Phasen erhält man einen Rückstand, der praktisch ebenso rein ist wie bei der Aufarbeitung I (2.2.1.). Er kann gleichfalls direkt gaschromatographisch mit dem PD untersucht werden ¹⁰⁷⁾, während für den ECD und die Dünnschichtchromatographie eine weitere Reinigung notwendig ist.

Schema 2.2.2.



Die beschriebene Arbeitsweise hat den Vorteil, daß man beim Ausschütteln mit kleineren Volumina und mit kleineren Scheidetrichtern arbeiten kann. Dabei wird auch die Gefahr von Verlusten geringer, die durch Adsorption an der Glaswand sowie an den beim Verdünnen mit Wasser ausfallenden Pflanzeninhaltsstoffen auftreten können.

Die Arbeitsweise bei der Aufarbeitung II ist im Schema 2.2.2. übersichtlich dargestellt, wiederum gemeinsam mit der anschließenden Säulenchromatographie an Florisil (2.2.3.) und den Möglichkeiten des Nachweises der Wirkstoffe (4.1., 4.2., 5.4.).

2.2.3. Säulenchromatographie

Wie die vorliegenden Erfahrungen zeigten, war Florisil am besten geeignet, um die Extrakte nach den beiden Aufarbeitungsverfahren I oder II weiter zu reinigen. Andere Adsorbentien hatten allein keinen genügenden Reinigungseffekt oder sie veränderten einige wichtige Wirkstoffe.

Die Aktivität des käuflichen Florisils kann sehr einfach durch Trocknen bei 130^oC und Zugabe von Wasser eingestellt werden. Allgemein üblich ist in Deutschland ein Zusatz von 5 % Wasser, der sich auch in den eigenen Versuchen bewährte. Für die Reinigung von Pflanzenextrakten ist es ausreichend, eine Säule von 1 cm Durchmesser etwa 6 - 7 cm hoch mit 5 g Florisil zu füllen.

Die Florisilsäule wird nach dem Aufbringen des vorgereinigten Extraktes nacheinander mit jeweils 100 ml der folgenden Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemische eluiert (in Klammern die verwendeten Kurzbezeichnungen) :

Tabelle 2.2.3-1. Elution der Pestizide von einer Florisilsäule

- : Bromderivate mit dem ECD nachweisbar.
() : Nicht mit dem ECD, sondern mit dem PD oder dünn-
schichtchromatographisch nachweisbar.

Fraktion	Chlorkohlen- wasserstoffe	Phosphorsäureester	Verschiedene Verbindungen	Carbamate, Harn- stoffe, Anilide
P	Aldrin Heptachlor HCB Lindan DDT DDE DDD Chlorbensid Tetrasul		Tecnazen Quintozen Trifluralin	
P / 8 + 2	H-epoxid Endosulfan A	Bromophos	Dichloran	
8 + 2	Dieldrin Endrin Endosulfan B Methoxychlor Chlorfenson Tetradifon	Fenitrothion Phenkapton Ethion Demeton-me-SO (Sulfotepp) (Fenthion)	Dichlobenil Dinobuton Dinosebacetat Triallat TCTNB TOK (Zinochlor)	-Propham- -Chlorpropham-
8+2 / 6+4		Parathion Parathion-me Disulfoton	Captan Folpet Dichlofluamid Diallat Binapacryl Chinothionat	-Monolinuron- -Linuron- -Metobromuron- -Sweep- (Chlorbufam) (Buturon)

6 + 4	Chlorfenvinphos Diazinon Malathion (Azinphos-me) (Dioxathion) (Demeton-me) (Dibrom) (Dichlorvos) (Methidathion)	Chinomethionat	-Propanil- -Pentachlor- -Monalide- -Carbaryl- -Mercaptodimethur- -Promecarb-
6 + 4 / M		-Piperonylbutoxid- (Atrazin) (Propazin) (Prometryn)	-Propoxur-
M	(Azinphos-ae) (Dimethoat)	Rhodandinitrob. (Dithianon) (Rotenon)	-Monuron- -Diuron- -Phenmedipham- (Chloroxuron)
M / MM	(Mevinphos) (Phosphamidon) (Trichlorphon) (Fensulfothion)		

Petroläther		(P)
Petroläther/Methylenchlorid	8 + 2	(8+2)
Petroläther/Methylenchlorid	6 + 4	(6+4)
Methylenchlorid		(M)
Methylenchlorid/Methanol	95 + 5	(MM)

Die Tabelle 2.2.3-1 zeigt, welche Pestizide dabei in den einzelnen Fraktionen eluiert werden. Aufgeführt sind die Verbindungen, die direkt oder erst nach der Herstellung von Bromderivaten (5.4.) mit dem ECD nachgewiesen werden, sowie die Wirkstoffe, die mit dem PD oder dünn-schicht-chromatographisch gefunden werden können.

Auf diese Weise erhält man Fraktionen, die jeweils nur eine begrenzte Anzahl von Wirkstoffen enthalten. Dadurch ist es in vielen Fällen möglich, Verbindungen voneinander zu trennen, die bei der Gaschromatographie ähnliche Retentionszeiten oder benachbarte Flecken im Dünnschichtchromatogramm ergeben.

Bei einer derartigen Auftrennung läßt es sich nicht vermeiden, daß verschiedene Pestizide in zwei aufeinander folgenden Fraktionen zu finden sind. In solchen Fällen prüft man beide Fraktionen oder verwendet eine größere Menge des Elutionsmittels der ersten Fraktion.

Im Prinzip ist es möglich, alle untersuchten Pestizide von der Säule zu eluieren, und es ist zu erwarten, daß auch die meisten neutralen Wirkstoffe, die in Zukunft in den Pflanzenschutz eingeführt werden, mit dem beschriebenen Verfahren erfaßt werden können.

Bei vielen Untersuchungen ist es jedoch nicht nötig, die Florisilsäule mit allen angegebenen Lösungsmitteln zu eluieren. Wie aus Tabelle 2.2.3-1 hervorgeht, befinden sich z. B. alle Chlorkohlenwasserstoffe in den Fraktionen P und 8+2. Soll nur auf diese Wirkstoffe geprüft werden, so ge-

nügt es, mit P und 8+2 oder nur mit 8 + 2 zu eluieren. Sucht man nur Phosphorsäureester mit dem PD, so kann man sich mit den Fraktionen 8 + 2, 6 + 4 und MM begnügen.

Im gleichen Maß wie die Konzentration an Methylenchlorid im Elutionsmittel zunimmt, werden auch mehr pflanzliche Verunreinigungen aus der Säule eluiert. In den Fällen, in denen man nur einzelne Wirkstoffgruppen in einer bestimmten Fraktion sucht, ist deshalb zu empfehlen, störende Substanzen vorher durch das Lösungsmittel der nächstfrüheren Fraktion zu eluieren. So findet man z. B. Dimethoat und andere wasserlösliche Phosphorsäureester in den Fraktionen M und MM. Will man nur diese Wirkstoffe nachweisen, so eluiert man zuerst mit 4 + 6 und entfernt damit alle Verunreinigungen, die bei der ausführlichen Trennung in den Fraktionen P, 8 + 2, 6 + 4 und 4 + 6 auftreten würden. Die anschließende Elution mit M und MM führt dann zu genügend reinen Lösungen der Pestizide.

Einzelne Gemüsearten wie z. B. Kohl, Lauch u. a. enthalten größere Mengen an Senfölen und anderen Schwefelverbindungen. Hier kann es notwendig werden, einzelne Fraktionen (ab 6 + 4) weiter zu reinigen. Welches zweite Säulenmaterial sich dazu am besten eignet, hängt sehr von der einzelnen Probe ab und läßt sich kaum voraussagen; es muß von Fall zu Fall ausprobiert werden.

Für solche Versuche sollte der Analytiker Anhaltspunkte haben, inwieweit und mit welchen Fraktionen die Pestizide bei der Chromatographie an anderen Adsorbentien wieder eluierbar sind. Aus diesem Grund sind in Tabelle 2.2, 3-2 die Werte aus eigenen Versuchen für zahlreiche Wirkstoffe zusammengestellt.

Verwendet wurden jeweils

- 5 g Kieselgel (Merck, 0,2 - 0,5 mm),
- 4 g Aluminiumoxid sauer (Woelm, Aktivitätsstufe III),
- 2 g eines Gemisches aus Magnesiumoxid (vorbehandelt nach ¹²¹)) und Celite (1+2),
- 2 g eines Gemisches aus Aktivkohle (Merck, DAB 6, vorbehandelt nach ¹²⁰)) und Celite (1 + 4),

daneben zum Vergleich auch 5 g Florisil (5 % Wasser). Zur Elution dienten jeweils 100 ml von Gemischen aus Petroläther (P) und Methylenchlorid (M) im angegebenen Verhältnis; die Kohlesäule wurde dagegen mit Petroläther, Petroläther/Acetonitril 98,5 + 1,5 (P/A) und Methylenchlorid eluiert ⁴⁷). Wiedergefunden wurden in den Versuchen, die mit 100 µg der Wirkstoffe durchgeführt wurden, durchschnittlich 90 - 100 %. Der besseren Übersicht wegen sind diese Werte in der Tabelle als 100 % angegeben.

	Kieselgel			Florisil			Aluminiumoxid sauer		Magnesiumoxid		Kohle			
	P	8+2	6+4	4+6	M	P	8+2	6+4	P	8+2	6+4	P	P/A	M
Aldrin	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
Heptachlor	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
DDE	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	40	60	-
DDT	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	75	25
Tecnazen	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	-	100
Quintozen	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	-	100
HCB	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	-	-
Tetrasul	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	-	-
Lindan	80	20	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	50	50
Chlorbensid	30	70	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	-	-
Heptachlor- epoxid	15	85	-	-	-	60	40	-	100	-	-	90	10	-
Disulfoton	25	75	-	-	-	-	50	50	80	20	-	100	50	50
Trifluralin	-	100	-	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
Endosulfan A	-	100	-	-	-	60	40	-	100	-	-	100	-	-
Endrin	-	100	-	-	-	-	100	-	100	-	-	100	-	-
Dieldrin	-	100	-	-	-	-	100	-	100	-	-	70	30	-

	Kieselgel		Florisil		Aluminiumoxid sauer		Magnesiumoxid		Kohle	
	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
Metasystox R	- 100	-	- 100	-	100	-	100	-	50	-
Methoxychlor	- 100	-	- 100	-	100	-	100	-	-	100
Phenkapton	- 100	-	- 100	-	100	-	100	-	-	100
Bromophos	- 100	-	80 20	-	100	-	100	-	-	100
Chlorfenson	- 100	-	- 100	-	60 40	-	100	-	-	100
Triallat	- 100	-	- 100	-	100	-	100	-	- 100	-
Dichlobenil	- 100	-	- 100	-	100	-	100	-	-	100
TCTNB	- 100	-	- 100	-	100	-	-	-	100	-
Dichloran	- 100	-	85 15	-	- 100	-	100	-	-	-
TOK	- 100	-	- 100	-	100	-	100	-	-	100
Ethion	- 100	-	- 100	-	- 100	-	100	-	- 75	25
Endosulfan B	- 100	-	- 100	-	- 100	-	30 70	-	-	100
Diallat	- 100	-	- 50 50	-	100	-	100	-	10	90
Chinomethionat	- 50 50	-	- - 100	-	100	-	100	-	-	-
Tetradifon	- 60 40	-	- 100	-	- 100	-	100	-	-	100
Chlorpropham	- 20 80	-	- 100	-	- 100	-	20 80	-	-	100

	Kieselgel			Florisil			Aluminiumoxid sauer		Magnesiumoxid		Kohle			
	P	8+2	6+4	4+6	M	P	8+2	6+4	P	8+2	6+4	P	P/A	M
Propham	-	-	100	-	-	-	100	-	90	10	-	-	-	100
Fenitrothion	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	100
Binapacryl	-	-	100	-	-	-	85	15	-	-	-	-	-	100
Parathion- methyl	-	-	100	-	-	-	40	60	-	-	-	-	-	100
Parathion	-	-	100	-	-	-	60	40	-	-	-	-	-	100
Dichlofluanid	-	-	100	-	-	-	20	80	-	-	-	-	100	-
Folpet	-	-	100	-	-	-	40	60	-	-	-	-	-	100
Swep	-	-	100	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	100
Rhodandi- nitrobenzol	-	-	100	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
Dinobuton	-	-	95	5	-	-	100	-	-	-	-	-	-	100
Dinosebacetat	-	-	90	10	-	-	100	-	-	-	-	-	-	100
Chinothionat	-	-	85	15	-	-	70	30	-	-	-	-	-	-
Captan	-	-	-	100	-	-	20	80	-	-	-	-	-	100
Linuron	-	-	-	100	-	-	30	70	-	-	100	-	-	100
Monolinuron	-	-	-	100	-	-	10	90	-	-	100	-	-	100

	Kieselgel			Florisil			Aluminiumoxid sauer			Magnesiumoxid			Kohle			
	P	8+2	6+4	4+6	M	P	8+2	6+4	4+6	M	P	8+2	6+4	P	P/A	M
Metobromuron	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	100
Malathion	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	100	-
Propanil	-	-	-	100	-	-	-	-	100	-	-	40	60	-	-	100
Diuron	-	-	-	10	90	-	-	-	55	45	-	-	90	10	-	100
Monuron	-	-	-	-	100	-	-	-	10	90	-	-	100	-	-	100

2. 2. 4. Ausbeute bei Zusatzversuchen

Bei der Isolierung von Pestizidrückständen aus Pflanzenmaterial führt jeder Arbeitsschritt, also Extraktion, Ausschüttelvorgänge oder Säulenchromatographie, zu unvermeidbaren Verlusten, die sich gegenseitig addieren. Sie hängen von der vorliegenden Konzentration der Pestizide ab und steigen bei geringen Wirkstoffmengen an.

Die Brauchbarkeit eines Analysenverfahrens ergibt sich nun unter anderem daraus, wie groß diese Verluste sind oder umgekehrt, welcher Anteil der Wirkstoffe nach der Aufarbeitung wiedergefunden wird. Man bestimmt diese "Ausbeute" (recovery), indem man bekannte Mengen der betreffenden Pestizide auf unbehandeltes Pflanzenmaterial aufbringt, die Analyse durchführt und berechnet, wieviel Prozent des Zusatzes wiedergefunden wurden. Eine gewisse Unsicherheit liegt lediglich darin, daß man die Verbindungen nicht in der gleichen feinen Verteilung in das Pflanzengewebe bringen kann, wie sie nach einer Behandlung der Pflanzen mit den Handelspräparaten tatsächlich vorliegen. Ausbeuten über 70 - 75 % werden in der Pestizidanalytik als ausreichend angesehen.

Um die eigene Methodik zu prüfen, wurden jeweils 0,1 ppm der Wirkstoffe zu zerkleinerten Äpfeln oder Spinatblättern zugesetzt. Zur Bestimmung der Pestizide, die direkt mit dem ECD erfaßt werden, arbeitete man die Proben nebeneinander nach Verfahren I (2. 2. 1. + 2. 2. 3.) und nach Verfahren II (2. 2. 2. + 2. 2. 3.) auf. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2. 2. 4. -1 zusammengestellt. Sie zeigen, daß beide Verfahren fast gleiche Ausbeuten ergeben, wobei die Werte meist im Bereich von 80 - 100 % liegen.

Tabelle 2.2.4 - 1.

Ausbeute in Zusatzversuchen mit 0,1 ppm. Verfahren I (2.2.1.)
und II (2.2.2.).

Pestizid	Ausbeute	
	I	II
	%	%
Aldrin	89	90
Chlorbensid	110	110
Chlorfenson	80	92
DDD	100	100
DDE	88	88
DDT	87	87
Dieldrin	90	97
Endosulfan A	79	82
Endosulfan B	70	70
Endrin	91	96
HCB	83	83
Heptachlor	110	110
Heptachlorepoxyd	94	100
Lindan	82	78
Methoxychlor	84	90
Tetradifon	90	95
Tetrasul	80	90
Bromophos	102	104
Chlorfenvinphos	78	86
Diazinon	100	100
Disulfoton	94	100
Ethion	93	100

Pestizid	Ausbeute	
	I	II
	%	%
Fenitrothion	80	88
Malathion	97	100
Parathion	100	100
Parathion-methyl	100	100
Phenkapton	86	96
Binapacryl	72	80
Captan	74	74
Chinomethionat	65	67
Chinothionat	76	76
Diallat	92	97
Dichlobenil	64	50
Dichlofluanid	95	90
Dichloran	78	81
Dinobuton	64	76
Folpet	79	76
Nitrofen	88	85
Quintozen	84	81
Schwefel	-	100
Tecnazen	76	76
Triallat	88	92
TCTNB	90	90
Trifluralin	80	77

Die Zusatzversuche mit Wirkstoffen, die über die Bromderivate (5.4.) bestimmt werden, wurden nur nach dem Verfahren II durchgeführt. Die entsprechenden Ausbeuten sind in Tabelle 2.2.4-2 wiedergegeben.

Tabelle 2.2.4-2.

Ausbeute in Zusatzversuchen mit 0,1 ppm. Verfahren II (2.2.2.).

Pestizid	%	Pestizid	%
Carbaryl ⁺⁾	102	Diuron	85
Mercaptodimethur	79	Linuron	76
Promecarb	105	Monolinuron	97
Propoxur ⁺⁾	75	Metobromuron	97
		Monuron	96
Chlorpropham	80		
Propham	96	Monalide	88
Swep	98	Pentanochlor	85
Phenmedipham	88	Propanil	100
		Piperonylbutoxid	65

⁺⁾ Zusatz 1 ppm.

Tabelle 2.2.4-3 zeigt weitere Pestizide, die nach der Aufarbeitung II dünnschichtchromatographisch wiedergefunden wurden.

Tabelle 2.2.4-3.

Weitere, dünn-schichtchromatographisch wiedergefundene Wirkstoffe.
Verfahren II (2.2.2.).

Azinphos-äthyl	Barban
Azinphos-methyl	Chlorbufam
Demeton-methyl	Buturon
Demeton-methyl-sulfoxid	Chloroxuron
Dibrom	
Dichlorvos	Anilazin
Dimethoat	Atrazin
Dioxathion	Prometryn
Fensulfothion	Propazin
Fenthion	
Methidathion	Dithianon
Mevinphos	Rhodandinitrobenzol
Phosphamidon	Rotenon
Sulfotepp	
Trichlorphon	

2. 2. 5. Überprüfung des Verfahrens

2. 2. 5. 1. Kontrollanalysen

Im Rahmen des 3. orientierenden Ringversuchs der Arbeitsgruppe "Pestizide" in der GDCh-Fachgruppe "Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie" wurde am 14. Juni 1971 eine Analysenprobe versandt, deren Gehalt an Pestizidrückständen nicht bekannt war. Als Untersuchungsmaterial war Apfelmus gewählt worden, weil sich darin die zugesetzten Wirkstoffe am besten gleichmäßig verteilen ließen.

Die Probe wurde nach dem Verfahren II (2. 2. 2) aufgearbeitet; zur Bestimmung diente die Gaschromatographie mit dem ECD auf der Säule mit 10 % SE-30. Die folgende Tabelle enthält die eigenen Ergebnisse sowie die Werte, die mit der gleichen Arbeitsweise von Herrn Chemierat Dr. H. H a h n in der Chemischen Untersuchungsanstalt der Stadt Nürnberg gefunden wurden.

	Gegeben:	Gefunden:	
		Thier	Hahn
Lindan	0,10 ppm	0,10 ppm	0,09 ppm
Parathion	0,20 ppm	0,32 ppm	0,27 ppm
Phenkapton	0,50 ppm	0,47 ppm	0,39 ppm
Tetrasul	0,05 ppm	0,03 ppm	-

Zusätzlich enthielt die Probe 0,08 ppm Malathion, die offenbar bereits hydrolysiert waren. Man erhielt in beiden Laboratorien einen Peak im Gaschromatogramm, der fälschlich als Diazinon gedeutet und berechnet wurde.

Herr Oberchemierat Dr. S. Ehrenstorfer, Staatliche Chemische Untersuchungsanstalt Augsburg, stellte bisher die Analysen für alle Ringversuche der GDCh-Arbeitsgruppe "Pestizide" zusammen. Zur Kontrolle des eigenen Verfahrens wurde er um weitere Analysenproben gebeten.

Drei Proben Apfelmus mit unbekanntem Rückstandsgehalt, die am 23. September 1971 eingingen, wurden nach dem Verfahren II (2.2.2) aufgearbeitet. Zur Identifizierung und Bestimmung der Wirkstoffe dienen die Gaschromatographie mit dem Elektroneneinfangsdetektor sowie die Bromierungsverfahren A und B (5.3.).

Man erhielt folgende Ergebnisse:

	Gegeben:	Gefunden:
Aldrin	0,10 ppm	0,07 ppm
Tetradifon	0,60 ppm	0,52 ppm
Bromophos	0,30 ppm	0,23 ppm
Phenkapton	0,50 ppm	0,38 ppm
Malathion	1,00 ppm	0,85 ppm
Binapacryl	1,00 ppm	0,75 ppm
Dichlofluanid	0,50 ppm	0,38 ppm
Chlorpropham	0,50 ppm	0,41 ppm
Diuron	0,90 ppm	0,69 ppm
Metobromuron	0,50 ppm	0,39 ppm

2.2.5.2. Ergebnisse in anderen Laboratorien

Die Arbeitsvorschrift für die Aufarbeitungsmethode II (2.2.2) wurde zwischen Dezember 1970 und Februar 1971 in der Chemischen Untersuchungsanstalt der Stadt Nürnberg (Direktor: Dr. B. Trinczek) überprüft ⁺). Dort setzte man zu tiefgefrorenen und wieder aufgetauten Karotten und Kartoffeln jeweils 0,01 ppm zahlreicher Wirkstoffe zu und fand folgende Ausbeuten:

Pestizid	% Ausbeute	Pestizid	% Ausbeute
Lindan	87 - 92	Parathion	90
Heptachlor	80 - 82	Parathion-methyl	90
Heptachlorepoxyd	90	Bromophos	90
Aldrin	80	Malathion	80
Dieldrin	77 - 79	Disulfoton	80
Endrin	80	Diazinon	60
Chlordan	80	Formothion	90
p,p'-DDT	90		
o,p'-DDT	80		
DDD	90		
DDE	90		

Bei Zusatzversuchen mit Protham und Chlorprotham zu Kartoffeln wurde ebenfalls nach Methode II (2.2.2) aufgearbeitet und dann nach

⁺) Herrn Chemierat Dr. H. H a h n danke ich bestens für seine Versuche und für wertvolle Anregungen

Methode A (5.4.1.2) mit Brom umgesetzt. Man erhielt folgende Ausbeuten:

Zusatz	% Ausbeuten	
	Propham	Chlorpropham
0,25 ppm	94	101
0,5 ppm	92	87
1,0 ppm	92	90

Von Januar 1971 ab wurde das Aufarbeitsverfahren II in der Chemischen Untersuchungsanstalt der Stadt Nürnberg routinemäßig angewandt.

Das Pfanni-Werk, Otto Eckart KG., München, Glonner Str. 6, war sehr an einer Methode zur Bestimmung von Propham und Chlorpropham in Kartoffeln interessiert. Herrn Dipl.-Chem. S. Süßenbach im dortigen Kontrollaboratorium wurde deshalb im Mai 1971 eine Arbeitsvorschrift zur Aufarbeitung nach Verfahren I (2.2.1) und zur Bromierung nach Methode A (5.4.1.2) übersandt. Eine Rücksprache im Oktober 1971 ergab, daß sich das Analysenverfahren dort gut bewährt hat und in Kürze routinemäßig angewendet werden soll.

3. Extraktion und Reinigung der Extrakte zum Nachweis saurer und neutraler Pestizide nebeneinander

3.1. Prinzip bisheriger Arbeiten

Außer einer eigenen Arbeit ⁷⁸⁾ sind in der Literatur bisher keine Arbeiten beschrieben, in denen die Rückstände der herbiziden Säuren und Phenole gemeinsam erfaßt wurden oder bei denen gleichzeitig auch auf die Anwesenheit neutraler Pestizide geprüft wurde.

Man beschränkte sich in den einzelnen Veröffentlichungen darauf, die Restmengen einiger Phenoxy-carbonsäuren ^{51, 52)}, Benzoesäurederivate ⁵³⁾, Dinitrophenole ⁵⁴⁾ oder anderer einzelner Verbindungen zu bestimmen. Die Extraktion der Wirkstoffe erfolgte dabei mit verschiedenen organischen, meist mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln; gelegentlich wurde etwas Phosphorsäure zugesetzt. Gemeinsam ist allen Verfahren die Isolierung der Wirkstoffe, bei der die sauren Verbindungen mit alkalischer wäßriger Lösung ausgeschüttelt werden. Häufig reinigte man die Extrakte noch durch Säulenchromatographie, wobei die Säuren oder Phenole durch stark polare Lösungsmittelgemische eluiert werden mußten.

In den gereinigten Extrakten wurden dann Methylderivate der sauren Wirkstoffe hergestellt, da sie bei der Gaschromatographie wesentlich besser flüchtig sind als die Herbizide selbst. Man verwendete dazu vor allem Diazomethan, aber auch Bortrifluorid ⁵⁵⁾, Bortrichlorid ⁵⁶⁾ oder Dimethylsulfat ⁵⁷⁾ in Methanol.

3.2. Eigene Ergebnisse

Mit den oben beschriebenen Aufarbeitungsverfahren I (2.2.1.) und II (2.2.2.) werden nur die neutralen Pestizide erfaßt; die gleichzeitige Anwesenheit saurer Wirkstoffe stört dabei nicht. Will man jedoch auch die Rückstände der herbiziden Säuren und Phenole nachweisen, so müssen die beiden Verfahren etwas modifiziert werden.

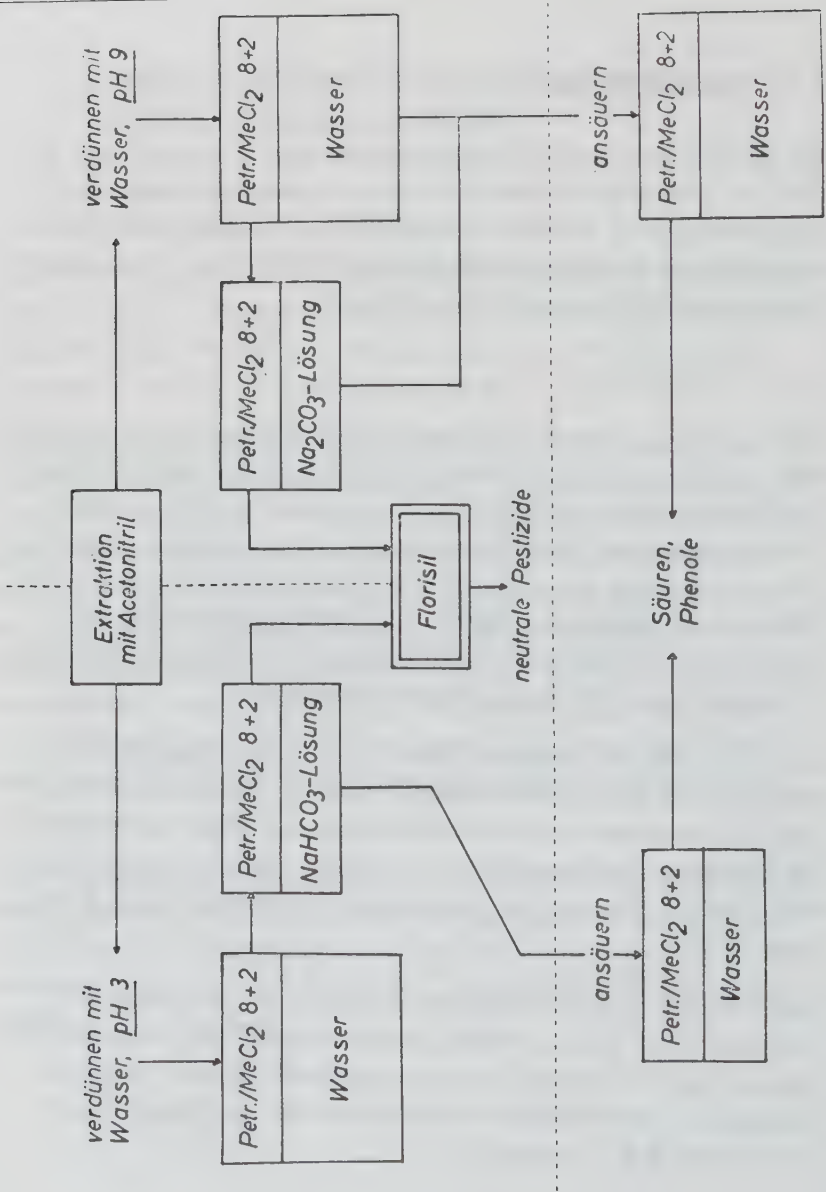
3.2.1. Aufarbeitung I

Wenn man den mit Wasser verdünnten Acetonitrilextrakt bis auf einen pH-Wert von etwa 3 ansäuert, so kann man die sauren und neutralen Pestizide gemeinsam mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausschütteln. Aus der organischen Phase isoliert man die sauren Wirkstoffe, indem man nicht wie üblich mit Wasser, sondern mit Natriumhydrogenkarbonat- und Natriumkarbonatlösung ausschüttelt. Die gewählten Bedingungen sind so mild, daß alkaliempfindliche Phosphorsäureester, die in der organischen Phase gelöst sind, offenbar nicht hydrolysiert werden.

In der verbleibenden organischen Phase werden die neutralen Pestizide nach Reinigung über die Florisilsäure bestimmt. Die alkalischen wäßrigen Phasen säuert man an und schüttelt die freien Säuren und Phenole mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) aus. Die Arbeitsweise ist in übersichtlicher Form auf der linken Seite des Schemas 3.2.1. dargestellt.

Bei der Überprüfung des Verfahrens zeigte sich, daß einige neutrale Fungizide (z.B. Captan, Folpet, Chinomethionat) beim Ansäuern des Acetonitrilextraktes auf pH 3 bereits hydrolysiert werden. Dies wird vermieden bei der folgenden Arbeitsweise, die auf der rechten Seite des Schemas 3.2.1. gezeigt ist.

Schema 3.2.1.



Hier bringt man den verdünnten Acetonitrilextrakt auf pH 9 und schüttelt zunächst die neutralen Verbindungen mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) aus. Die organische Phase wird wie üblich weiter aufgearbeitet; die Säuren und Phenole verbleiben als Salze in der wäßrigen Lösung.

PCP und die Dinitrophenole gehen allerdings bei pH 9 zum Teil ebenfalls in die organische Phase über. Soll auf diese Verbindungen geprüft werden, so wäscht man die organische Phase mit Natriumkarbonatlösung und gibt die Waschflüssigkeit zur wäßrigen Phase zurück.

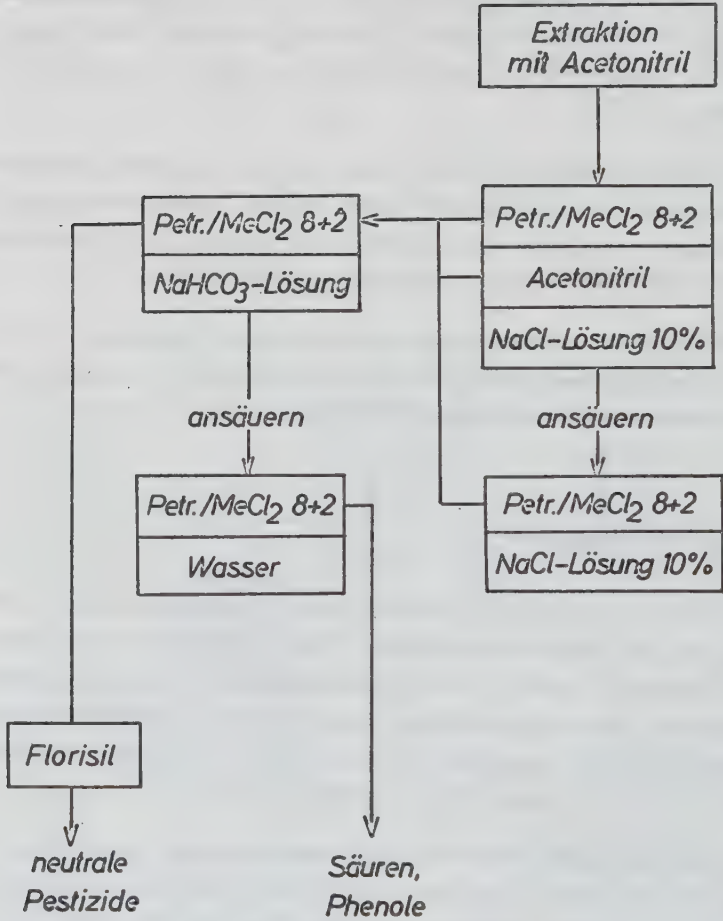
Der verdünnte Acetonitrilextrakt wird anschließend angesäuert; die freien Säuren und Phenole schüttelt man dann ebenso wie vorher die neutralen Verbindungen mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) aus.

3. 2. 2. Aufarbeitung II

Der Acetonitrilextrakt wird zunächst ebenso aufgearbeitet wie es für den Nachweis der neutralen Pestizide (2. 2. 2.) beschrieben wurde. Dabei geht bereits der größte Teil der sauren Wirkstoffe mit in die organische Phase über. Um die Extraktion zu vervollständigen, wird die verbleibende wäßrige Phase angesäuert und nochmals mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt (Schema 3. 2. 2.).

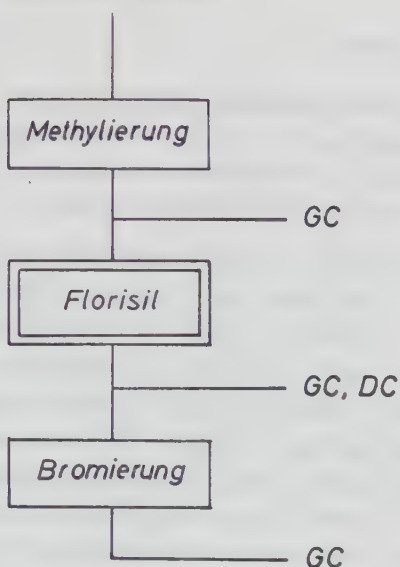
Aus der organischen Phase isoliert man die Säuren und Phenole, indem man nicht mit Wasser, sondern mit Natriumhydrogenkarbonat- und Natriumkarbonatlösung auswäscht. Die Petroläther/Methylenchlorid - Mischung dient wiederum zur Bestimmung der neutralen Verbindungen. Die alkalischen, wäßrigen Lösungen säuert man an und schüttelt die freien Säuren und Phenole mit Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) aus.

Schema 3.2.2.



Schema 3.2.3.

Säuren, Phenole



3.2.3. Methylierung

Die Lösungen der sauren Verbindungen, die man nach den Aufarbeitungsverfahren I oder II erhält, werden eingedampft und mit Diazomethanlösung versetzt. Dieses Reagens hat sich am besten bewährt, weil sich damit alle untersuchten Verbindungen rasch und quantitativ methylieren lassen und weil der Reagensüberschuß durch Eindampfen recht einfach wieder zu entfernen ist. Nach der Methylierung sind die Extrakte meist noch gefärbt, aber in den meisten Fällen genügend rein für die gaschromatographische Untersuchung mit dem ECD.

3. 2. 4. Säulenchromatographie

Wenn die Extrakte noch Pflanzeninhaltsstoffe enthalten, die den gaschromatographischen Nachweis stören, oder wenn eine dünnschichtchromatographische Trennung durchgeführt werden soll, muß sich an die Methylierung eine säulenchromatographische Reinigung anschließen.

Auch hier bewährte sich Florisil mit 5 % Wasserzusatz am besten als Säulenfüllung, wobei 5 g in einer Säule von 1 cm Durchmesser ausreichend für die Reinigung waren. Durch Petroläther (P) wird nur der Methyläther von PCP eluiert und so von den übrigen Verbindungen abgetrennt. Die Methylderivate der übrigen Wirkstoffe erhält man durch Elution mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2). Eine Ausnahme macht nur Flurenol, aus dem mit Diazomethan der 9-Hydroxy-fluoren-9-carbonsäure-methylester ³⁸⁾ entsteht. Wegen ihrer freien Hydroxygruppe kann diese Verbindung erst durch Methylenchlorid/Methanol (99 + 1) eluiert werden.

3. 2. 5. Ausbeute bei Zusatzversuchen

Dieses Aufarbeitsverfahren zum Nachweis der Rückstände von Säuren und Phenolen wurde auf die gleiche Weise überprüft, wie es unter 2. 2. 4. für die neutralen Pestizide beschrieben wurde. Man setzte jeweils 0,1 ppm der Wirkstoffe zu zerkleinerten Spinatblättern zu und berechnete, wieviel Prozent davon nach den beiden Aufarbeitungen I und II wiedergefunden wurden.

Tabelle 3.2.5.

Ausbeuten in Zusatzversuchen mit 0,1 ppm. Verfahren I (3.2.1.)
und II (3.2.2.).

Pestizid	I	II
	%	%
Bromoxynil	98	94
2,4-D	89	94
2,6-DBz	102	98
Dicamba	96	103
Dichlorprop	107	110
Dinoseb	78	82
DNOC	79	82
Ioxynil	92	84
MCPA	89	92
MCPB	86	90
Mecoprop	100	95
α -NAA	80	82
β -NOA	68	75
PCP	110	97
2,4,5-T	100	85
2,4,5-TB	106	87
2,4,5-TP	105	98
2,3,5-TIBA	104	100

4. Nachweis und Bestimmung der Pestizide

4.1. Gaschromatographie

Von der Arbeitsmethodik her gesehen, bereitet heute die gaschromatographische Auftrennung von Chlorkohlenwasserstoffen und Phosphorsäureestern im Nanogrammbereich keine Schwierigkeiten mehr. Im Handel sind Geräte erhältlich, die im Routinebetrieb von wenig geschultem Personal bedient werden können. Auch das Arbeiten mit Glassäulen ist inzwischen in der Praxis eingeführt und problemlos geworden. Die Herstellung einer Säule mit besonders guten Trenneigenschaften und eine optimale Konditionierung nach dem Füllen stellt allerdings noch einige Anforderungen an das Geschick und die Erfahrung des Analytikers.

4.1.1. Trennsäulen

Zur Säulenfüllung kann man nur solche flüssigen Phasen wählen, die thermisch sehr stabil sind und die bei Ofentemperaturen von 200° C keine Stoffe abgeben, die den ECD verschmutzen würden. Seit jeher werden deshalb in der Pestizidanalytik verschiedene Silikonpolymere verwendet, von denen heute hochgereinigte Erzeugnisse zur Verfügung stehen.

In der Praxis verwendet man meist zwei Säulen mit Silikonderivaten verschiedener Polarität. Am weitesten verbreitet sind das unpolare Methylsilikon SE-30 und das polarere Trifluorpropylmethylsilikon QF-1 oder entsprechende Derivate höherer Reinheit (z. B. OV-Reihe). Die Belegung schwankt je nach den gewählten Arbeitsbedingungen (Säulendurchmesser, Trägergasgeschwindigkeit, Ofentemperatur) zwischen 2 und 15 %. Welches Trägermaterial man wählt, ist von untergeordneter Bedeutung.

Eine Säulenfüllung aus einem Gemisch von zwei verschiedenen stationären Phasen (z. B. gleiche Teile von 10 % DC-200 und 15 % QF-1 ⁵⁹⁾), soll bessere Trennungen einzelner Wirkstoffe voneinander ermöglichen, als dies mit einer der beiden Säulen allein möglich ist. Verwendet man eine solche "Mischsäule" und prüft nur auf eine kleine Gruppe von Pestiziden, so kann man einen Peak leichter einer bestimmten Verbindung zuordnen. Dieser Vorteil wird jedoch umso geringer, je größer der Umfang der Untersuchung wird und je mehr Verbindungen dann im gleichen Chromatogramm zu erwarten sind.

In diesem Fall kann man einen Peak besser identifizieren, wenn man die Retentionszeiten auf zwei verschiedenen Säulen bestimmt und damit zwei charakteristische Werte besitzt. Dies war der Grund, warum in den eigenen Untersuchungen weiterhin eine unpolare und eine polarere stationäre Phase verwendet wurde.

Man arbeitete mit Glassäulen von 1 m Länge, die entweder 10 % SE-30 oder 15 % QF-1 enthielten, beide auf Chromosorb W AW/DMCS (60-80 mesh). Als Trägergas dienten 120 ml/min. Argon/Methan - Gemisch (95 + 5). Die Ofentemperaturen lagen bei der SE-30-Säule zwischen 175 und 200°C, bei QF-1 zwischen 175 und 185°C.

Wie es allgemein in der Pestizidanalytik üblich ist, wurden die Retentionszeiten der verschiedenen Verbindungen auf Aldrin als Standardsubstanz bezogen. Die Werte für diese relativen Retentionszeiten (RRT-Werte) sind bei den Arbeitsvorschriften mit aufgeführt und zwar in den Tabellen 6.4.2. (direkt mit dem ECD nachweisbare Verbindungen), 6.6.2. (Bromderivate der neutralen Wirkstoffe), 7.4. (Methylderivate der Säuren und Phenole) und 7.6.2. (Bromderivate der Säure-methylester). Von den Methylderivaten der sauren Verbindungen wurden zusätzlich die relativen Retentionszeiten auf Säule mit 5 % des Polyamids Versamid 900 bestimmt.

Auch wenn die RRT-Werte auf zwei verschiedenen polaren Säulen auf ein bestimmtes Pestizid hindeuten, ist damit noch keine sichere Identifizierung möglich. Es ist nicht auszuschließen, daß die gefundenen Peaks von störenden Pflanzeninhaltsstoffen stammen^{108, 109)}, von Verunreinigungen, die während der Analyse eingeschleppt wurden¹¹⁰⁾ oder auch von Rückständen anderer Verbindungen, die nicht in die Untersuchung einbezogen waren^{111, 112, 113)}.

Der qualitative Befund muß deshalb durch eine zweite, unabhängige Analysenmethode bestätigt werden, z. B. durch die Dünnschichtchromatographie oder auch ein geeignetes kolorimetrisches Verfahren.

4. 1. 2. Nachweisempfindlichkeit

Es erschien nicht sehr sinnvoll, die absolute Nachweisempfindlichkeit für die einzelnen Verbindungen zu ermitteln. Sie hängt ab von der Bauart des verwendeten ECD und Elektrometers, von der Qualität der Säulenfüllung sowie vom jeweiligen Verschmutzungsgrad des Detektors.

Will man ein Maß für die Nachweisempfindlichkeit bei den einzelnen Wirkstoffen angeben, so vergleicht man am besten ihre Peakhöhen mit der einer Standardsubstanz. Dabei ist es zweckmäßig, wiederum Aldrin zu verwenden, das bereits als Bezugssubstanz für die Ermittlung der relativen Retentionszeiten dient. Ein solches Verhältnis der Peakhöhen ist relativ unabhängig von der Art und Qualität der Meßanordnung und kann auch in einem anderen Labor reproduziert werden.

Als Zahlenwert wird in der eigenen Arbeit ein RNE-Wert ("relative Nachweisempfindlichkeit") verwendet. Er gibt an, wieviel Nanogramm eines Pestizids einen ebenso hohen Peak ergeben wie 1 ng Aldrin, sofern die Messungen im Linearitätsbereich des Detektors ausgeführt werden. Die RNE-Werte für die einzelnen Pestizide sind in den Tabellen

des experimentellen Teils neben den relativen Retentionszeiten aufgeführt.

4.1.3. Möglichkeit der Temperaturprogrammierung

Wenn mehrere Verbindungen zu trennen sind, die sich stark in ihren Retentionszeiten unterscheiden, so erhält man im allgemeinen durch die Programmierung der Säulentemperatur die besten Ergebnisse. Zahlreiche Rückstandslaboratorien besitzen jedoch kein Gerät, bei dem eine Temperaturprogrammierung vorgesehen ist. Außerdem enthalten die meisten Gaschromatographen nur einen ECD, so daß man die Veränderungen der Nulllinie nicht kompensieren kann. Die Programmierung ist dann nur möglich, wenn man sehr gut konditionierte Säulen besitzt. Gleichzeitig wird die für eine Analyse benötigte Zeit länger, weil der Säulenofen nach jedem Chromatogramm wieder abkühlen und eine stabile Anfangstemperatur erreichen muß.

Das eigene Verfahren sollte eine rasche Analyse mit möglichst einfachen Mitteln ermöglichen. Auf die Verwendung des Temperaturprogramms bei der gaschromatographischen Identifizierung wurde deshalb verzichtet.

4.2. Dünnschichtchromatographie

Hat man gaschromatographisch Rückstände eines Pflanzenschutzmittels nachgewiesen, so muß der Befund mit einer zweiten, unabhängigen Untersuchungsmethode bestätigt werden. Bei der routinemäßigen Rückstandskontrolle ist dazu die Dünnschichtchromatographie am besten geeignet.

Von einigen Ausnahmen abgesehen, wird die Gaschromatographie mit dem ECD in Deutschland erst seit etwa 1967 in den Überwachungs-laboratorien verwendet. Davor war es nur möglich, die Pestizidrückstände dünn-schichtchromatographisch nachzuweisen und durch Vergleich der Fleckenintensität halbquantitativ zu bestimmen, denn spezifische kolorimetrische Methoden waren zu aufwendig für die Routinearbeit. Aus dieser Zeit stammen viele Arbeiten, die sich vor allem mit der Auftrennung und Identifizierung von Chlorkohlenwasserstoffen und Phosphorsäureestern beschäftigten. Als Trägermaterial diente meist Kieselgel; nur für die Chlorkohlenwasserstoffe wurde häufiger Aluminiumoxid verwendet, weil es leichter chloridfrei zu waschen war.

Da die Polarität der untersuchten Pestizide sehr unterschiedlich war, wurden die verschiedensten Fließmittelsysteme zur Auftrennung einzelner Gruppen vorgeschlagen. Ebenso wurden zahlreiche Sprühmittel beschrieben, mit denen man kleinere Gruppen chemisch ähnlicher Wirkstoffe auf der Platte recht spezifisch sichtbar machen konnte. In keiner Veröffentlichung finden sich jedoch Hinweise darauf, inwieweit andere Pestizide, die nicht in die Untersuchungen einbezogen waren, den angestrebten Nachweis stören können.

Mit der eigenen Aufarbeitungsmethode für Pflanzenmaterial werden weit mehr Pestizide als bei anderen Verfahren erfaßt. Es mußte daher für alle untersuchten Wirkstoffe gezeigt werden, wie sie sich auf Grund ihrer Polarität bei der DC verhalten, mit welchen Sprühmitteln sie sichtbar zu machen sind und welche anderen Pestizide gegebenenfalls den Nachweis stören können.

Für diese Übersicht war ein System zu verwenden, bei dem man alle untersuchten Pestizide auf dem gleichen Chromatogramm vergleichen konnte, ohne daß man auf eine ausreichende Trennung einzelner Verbindungen voneinander Wert legen mußte. Dafür geeignet war Kieselgel als Trä-

germaterial und das Gemisch Petroläther/Aceton (3 + 1) als Fließmittel.

Zum Nachweis der zahlreichen Verbindungen soll man mit möglichst wenigen Sprühmitteln auskommen. Es wurden daher Sprühmittel ausgewählt, die sich in der Praxis bewährt haben und die gleichzeitig eine größere Zahl von Pestiziden sichtbar machen können. Dies waren Silbernitratlösung⁶⁰⁾, Palladiumchloridlösung^{61, 62)}, Dibromchinon-chlorimid in Eisessig^{42, 63)}, 4-(p-Nitrobenzyl)-pyridin / Tetraäthylenpentamin⁶⁴⁾ und p-Dimethylaminobenzaldehyd⁶⁵⁾. Zum Nachweis vieler Phosphorsäureester und einiger N-Methylcarbamate ist offenbar auch die Cholinesterasehemmung^{13, 116, 117)} gut geeignet, jedoch liegen noch keine eigenen Erfahrungen mit dieser Methode vor.

In Tabelle 4.2. sind die hRf-Werte der einzelnen Wirkstoffe für das Fließmittel Petroläther/Aceton (3 + 1) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Gleichzeitig ist bei jeder Verbindung angegeben, mit welchen der fünf Sprühreagentien sie angefärbt werden kann.

Diese Zusammenstellung kann dazu beitragen, voreilige Interpretationen der Dünnschichtchromatogramme zu vermeiden. Soll nämlich ein bestimmtes Pestizid sicher identifiziert werden, so muß man damit rechnen, daß alle Verbindungen mit ähnlichem hRf-Wert den Nachweis stören können. Wählt man an Hand der Tabelle 4.2. geeignete Sprühmittel aus, dann ist es oft möglich, die Anwesenheit der störenden Substanzen auszuschließen. Gelingt dies nicht, so muß man versuchen, durch ein Fließmittelsystem anderer Polarität das gesuchte Pestizid auf dem Chromatogramm von den übrigen Substanzen abzutrennen.

Im experimentellen Teil (6.5.) sind mehrere Fließmittelsysteme angegeben, die sich bei der Auftrennung von Verbindungen der gleichen chemischen Gruppe bewährt haben. Dort findet man auch einige spezielle Methoden zur Anfärbung einzelner Wirkstoffe.

Tabelle 4.2.

hRf-Werte neutraler Pestizide (Kieselgel, Petroläther/Aceton, 3 + 1, Kammersättigung).

Verwendete Abkürzungen:

Ag	:	Silbernitratlösung
NBP	:	4-(p-Nitrobenzyl)-pyridin / Tetraäthylenpentamin
Pd	:	Palladiumchloridlösung
DBQ	:	Dibromchinon-chlorimid in Eisessig
E.	:	Ehrlichs Reagens

hRf	Kurzname	Ag	NBP	Pd	DBQ	E.
13	Dimethoat	-	++	++	1)	2)
13	Fensulfothion	-	(+)	(+)	++	-
14	Trichlorphon	++	++	-	-	-
20	Phosphamidon	++	++	-	-	-
22	Chloroxuron	++	-	-	(+)	++
25	Monuron	++	-	-	(+)	++
26	Mevinphos	-	+	-	-	-
27	Rotenon	-	-	-	-	3)
28	Demeton-methyl	-	++	++	4)	-
31	Phenmedipham	-	-	-	(+)	++
31	Diuron	++	-	-	(+)	++
33	Dithianon	-	5)	-	-	-
38	Azinphos-äthyl	-	-	++	++	-
39	Carbaryl	-	-	-	-	(+)
40	Azinphos-methyl	-	++	++	++	-
41	Propoxur	-	-	-	-	(+)
42	Dichlorphos	(+)	+	-	-	-
43	Chlorfenvinphos	++	+	-	-	-

hRf	Kurzname	Ag	NBP	Pd	DBQ	E.
44	Dibrom	++	+	-	-	-
46	Methidathion	-	++	++	++	+
47	Captan	++	-	-	-	-
47	Folpet	++	-	-	-	-
47	Buturon	++	-	-	(+)	++
47	Metobromuron	++	-	-	+	++
47	Monolinuron	++	-	-	+	++
48	Dichlofluanid	++	-	-		+
48	Propanil	++	-	-	-	(+)
48	Rhodandinitrob.	-	6)	-	-	-
49	Linuron	++		-	(+)	++
49	Mercaptodimethur	-	-	-	(+)	(+)
49	Dichloran	-	-	-	-	-
50	Dichlobenil	++	-	-	-	-
50	Atrazin	++	+	-	-	-
53	Malathion	-	++	++	++	-
53	Parathion-methyl	-	++	7)	++	-
53	Promecarb	-	-	-	-	(+)
53	Barban	++	6)	-	-	++
53	Zinnochlor	++	8)	-	-	-
54	Fenitrothion	-	++	7)	++	-
54	Dioxathion	-	6)	++	++	6)
54	Fenthion	++	++	++	6)	-
55	Swep	++	-	-	-	++
55	Prometryn	-	-	-	-	-
55	Propazin	++	+	-	-	-
56	Parathion	-	++	7)	++	-
59	Nitrofen	+	-	-	-	-
60	Sulfotepp	-	+	++	++	-

hRf	Kurzname	Ag	NBP	Pd	DBQ	E.
60	Diazinon	-	2)	++	++	-
60	Chlorbufam	++	-	-	-	++
60	TCTNB	++	(+)	-	-	-
60	Methoxychlor	++	-	-	-	-
61	Dinosebacetat	-	1)	-	-	-
62	Endosulfan B	++	-	-	-	-
63	Chinothionat	-	-	-	-	-
63	Chinomethionat	-	-	-	-	-
63	Binapacryl	-	1)	-	-	-
63	Dinobuton	-	1)	-	-	-
65	Phenkapton	++	(+)	++	++	-
65	Pentanochlor	++	-	-	-	(+)
65	Chlorpropham	++	-	-	-	++
65	Piperonylbutoxid	-	-	-	-	3)
66	Bromophos	++	++	(+)	(+)	-
67	Ethion	-	(+)	++	++	-
67	Chlorfenson	++	-	-	-	-
67	Propham	-	-	-	-	++
67	Tecnazen	++	-	-	-	-
68	Quintozen	++	-	-	-	-
69	Lindan	++	-	-	-	-
69	Tetradifon	++	-	-	-	-
70	Monalide	++	-	-	-	(+)
71	Disulfoton	-	-	++	4)	(+)
71	DDD	++	-	-	-	-
71	Endrin	++	-	-	-	-
72	Demeton-me-SO	-	-	++	4)	(+)
72	Diallat	++	-	-	1)	-
72	Heptachlorepoxid	++	-	-	-	-

hRf	Kurzname	Ag	NBP	Pd	DBQ	E.
72	Trifluralin	-	-	-	-	-
73	Triallat	++	-	-	1)	-
74	Chlorbensid	++	-	-	6)	-
75	DDT	++	-	-	-	-
75	Dieldrin	++	-	-	-	-
76	Endosulfan A	++	-	-	-	-
80	Heptachlor	++	-	-	-	-
81	Aldrin	++	-	-	-	-
81	Tetrasul	++	-	-	-	-
83	DDE	++	-	-	-	-
83	HCB	++	-	-	-	-

- 1) gelb
- 2) rosa
- 3) blauschwarz
- 4) grau
- 5) graugrün
- 6) violett
- 7) nach längerer Zeit braun
- 8) schon vor dem Erhitzen rot

5. Herstellung von Derivaten der Pestizide

5.1. Möglichkeit der Derivatbildung

Wie in Kapitel 1.2. ausgeführt ist, wird heute in den Laboratorien, die routinemäßig Rückstandsanalysen durchführen, nur mit dem ECD oder gleichzeitig mit dem ECD und dem PD gearbeitet. Dabei erfaßt man die Restmengen all der Pestizide, deren Moleküle Halogene oder Nitrogruppen bzw. Phosphor enthalten.

Daneben gibt es aber noch eine größere Anzahl von Pflanzenschutzmitteln, die keine dieser funktionellen Gruppen besitzen. Sie können mit den in der Praxis gebräuchlichen Detektoren nicht nachgewiesen werden; auf ihre Rückstände wird deshalb bei der allgemeinen Lebensmittelüberwachung nicht geprüft.

Der Gedanke lag nahe, von diesen Pestiziden Derivate herzustellen, die dann mit einem der üblichen Detektoren nachgewiesen werden können. Da bis vor etwa 5 Jahren nur der ECD zur Verfügung stand, versuchte man in älteren Arbeiten fast ausnahmslos, Halogene oder Nitrogruppen in die nachzuweisenden Moleküle einzuführen. Die dabei verwendeten Methoden werden bei der Besprechung der einzelnen Wirkstoffgruppen erläutert.

In allen Fällen sollten über die Derivatbildung nur ein einziges Pflanzenschutzmittel oder wenige, nahe verwandte Verbindungen nachgewiesen werden. Außerdem enthalten die Arbeiten keine Angaben darüber, welche der anderen bekannten Pestizide gleichzeitig erfaßt werden und damit den beschriebenen Nachweis stören können. Die angegebenen Verfahren haben bisher keinen Eingang in die Praxis gefunden.

Wünschenswert blieb eine möglichst universell anwendbare Analysen-

methode, mit der die Rückstände der bisher nicht erfaßten Pestizide in geeignete Derivate überführt werden können und so der Routineanalyse im Rahmen der Lebensmittelüberwachung zugänglich werden.

5.2. Anforderungen an die Analysenmethode

Eine für die Praxis geeignete Methode sollte den folgenden Anforderungen genügen:

1. Extraktion der pflanzlichen Proben und Reinigung der Extrakte auf die gleiche Weise wie bei der Bestimmung der übrigen Pestizide, so daß keine neuen Aufarbeitungsverfahren nötig werden.
2. Herstellung der Derivate mit einem möglichst geringen Aufwand an Arbeitszeit und Reagenzien.
3. Möglichkeit der gaschromatographischen Analyse mit denselben Säulen, die zur Bestimmung der übrigen Pestizide verwendet werden.
4. Möglichkeit der spezifischen qualitativen Identifizierung durch Bildung von Derivaten, bei denen das ursprüngliche Molekül so wenig wie möglich verändert ist.
5. Möglichkeit der quantitativen Bestimmung durch Bildung nur eines einzigen Derivates von jedem Pestizid.
6. Möglichkeit der quantitativen Bestimmung im Konzentrationsbereich der noch zulässigen Höchstmengen ⁶⁾.
7. Gleiche Arbeitsweise zur Analyse der Rückstände möglichst vieler Pestizide.

5.3. Herstellung von Bromderivaten

Für die eigenen Arbeiten stand nur der ECD zur Verfügung. Da der Detektor sehr empfindlich auf Bromverbindungen anspricht und da die Bromierung organischer Verbindungen relativ einfach durchzuführen ist, versprach die Herstellung von Bromderivaten den meisten Erfolg.

Die meisten nachzuweisenden Pestizide enthalten einen aromatischen Ring, während die natürlichen Pflanzeninhaltsstoffe, die aus den Obst- und Gemüseproben mitextrahiert werden, vorwiegend aliphatischer Natur sind. Eine Bromsubstitution sollte deshalb möglichst am Benzolkern erfolgen.

Umfangreiche Versuche zeigten, daß zur Bromierung der verschiedensten aromatischen Verbindungen im Mikromaßstab die Verwendung von Brom in Gegenwart von Jod als Katalysator am besten geeignet war. Andere Bromierungsmittel bewährten sich nicht, denn sie waren entweder zu wenig universell anwendbar oder ihr Überschuß war nach der Reaktion nur schwierig zu entfernen.

Die Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel ergab, daß sich ein großer Teil der Pestizide (z. B. Carbanilsäureester, Anilide, Piperonylbutoxid, Phenoxy-carbonsäureester) am besten in Methylenchlorid oder in Eisessig bromieren ließ. Voraussetzung war eine ausreichend hohe Bromkonzentration von 15 - 20 %, wobei dem Brom 5 Gewichtsprozent Jod zugesetzt waren. Die Reaktionen in Methylenchlorid liefen oft langsamer ab als in Eisessig; außerdem waren die Ansätze in Eisessig leichter aufzuarbeiten. Zum Nachweis dieser Pestizide wurde deshalb Eisessig als Lösungsmittel gewählt (Methode A).

Bei anderen Wirkstoffen (z. B. Harnstoffe) kam man erst zu geeigneten Derivaten, wenn man die Rückstände direkt in einer Mischung aus Brom und Jod (95 + 5) löste und gleichzeitig etwas Wasser zusetzte (Methode B).

Manche Pestizide (z. B. Anilide) konnten sowohl in Eisessig als auch ohne Lösungsmittel bromiert werden.

Die Bromprodukte der N-Methylcarbamate waren nicht direkt gaschromatographisch nachweisbar. Sie zersetzten sich offenbar auf der Säule ebenso wie die N-Methylcarbamate selbst zu den schwerer flüchtigen Phenolen. Man konnte jedoch die Bromderivate hydrolysieren und die entstehenden Bromphenole acetylieren. Auf diese Weise kam man ebenfalls zu Verbindungen, die thermisch stabil und mit dem ECD nachweisbar waren.

Aus Pestiziden, die sich vom Naphthalin ableiten (Carbaryl, NAA, NOA), entstanden bei hohen Konzentrationen von Brom in Gegenwart von Jod bereits Produkte, die für die gaschromatographische Trennung bei etwa 200°C zu schwer flüchtig waren. Geeignet waren jedoch die Monobromderivate, die sich bei Verwendung von wenig Brom ohne Jodzusatz herstellen ließen.

5. 4. Bromderivate der einzelnen Wirkstoffgruppen

5. 4. 1. Carbanilsäureester

5. 4. 1. 1. Bisherige Arbeiten

Von den Carbanilsäureestern sind bisher nur Protham und Chlorprotham direkt gaschromatographisch bestimmt worden¹⁷⁾. Als Detektor verwendete man den WLD oder den FID, bei Chlorprotham auch den ECD; die Nachweisempfindlichkeit war aber für Rückstandsanalysen zu gering. Außerdem zeigten systematische Arbeiten^{66, 67)}, daß sich Carbanilsäureester auf der Säule zersetzen können, wobei die entsprechen-

den Isocyanate und Aniline entstehen. Auffallend war, daß bei der Gaschromatographie von 4-Nitro-, 4-Chlor- und 4-Bromcarbanilsäure-äthylester nur die Peaks der zugehörigen Aniline auftraten. Man zog daraus den Schluß, daß elektronegative Gruppen im Phenylring die thermische Spaltung der Carbanilsäureester begünstigen. Die eigenen Ergebnisse zeigen jedoch, daß diese Folgerung nicht immer zutrifft.

Durch die Herstellung von Trimethylsilylderivaten ⁶⁸⁾ konnte zwar die Stabilität der Carbanilsäureester etwas verbessert werden, nicht jedoch ihre Nachweisbarkeit. Auf der Suche nach Derivaten, die mit dem ECD nachweisbar waren, wurde das bei der Hydrolyse von Propham entstehende Anilin mit 4-Chlor- α, α, α -trifluor-3,5-dinitrotoluol oder mit $\alpha, \alpha, \alpha, 4$ -Tetrafluor-3-nitrotoluol umgesetzt ⁶⁹⁾. Propham, Chlorpropham, Chlorbufam und Barban erhitzte man nach der dünnschichtchromatographischen Trennung auf der Platte mit HCl und 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol auf 190°C und eluierte die 2,4-Dinitrophenylaniline aus den Flecken ⁷⁰⁾.

Chlorpropham wurde mit Eisessig und Schwefelsäure in Gegenwart von Brom und Jod 1 Stunde lang auf 130°C erhitzt ⁷¹⁾. Die Annahme, daß dabei 2,4,6-Tribrom-3-chloranilin entsteht, konnte in einem eigenen Versuch bestätigt werden (8.6.). Ein in der Originalarbeit abgebildetes Gaschromatogramm zeigt jedoch, daß gleichzeitig aus den mitextrahierten Pflanzeninhaltsstoffen zahlreiche weitere Peaks entstehen, die den Nachweis empfindlich stören.

In allen diesen Fällen wurden nur die Derivate der zugehörigen Aniline hergestellt. Ein spezifischer qualitativer Nachweis der Carbanilsäureester war dabei nicht möglich, denn außer den möglichen Metaboliten wurden alle Verbindungen erfaßt, die bei der Hydrolyse das gleiche Anilin ergeben (z.B. Chlorpropham, Chlorbufam und Barban).

5.4.1.2. Eigene Ergebnisse

Bei der Bromierung in Methylenchlorid oder in Eisessig (Methode A) ergaben Ester der Carbanilsäure mit einfachen Alkoholen (Propham, Chlorpropham, Swep) jeweils nur ein Bromprodukt (I, II und III). Die Reaktion war nach 10 Minuten beendet; die Bromprodukte waren in der Eisessiglösung mindestens 2 Stunden lang stabil. Bei Bromkonzentrationen unter 5 % sowie beim Zusatz von Natriumacetat zum Eisessig erhielt man keine quantitative Ausbeute. Andere Lösungsmittel erwiesen sich als nicht brauchbar.

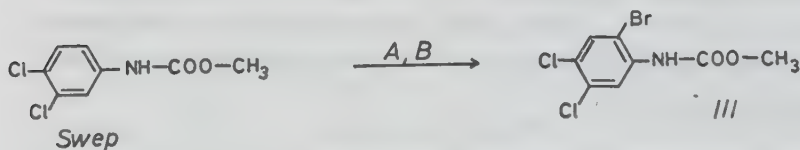
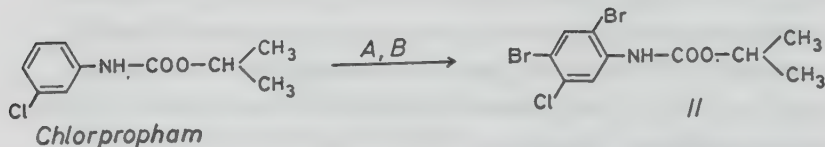
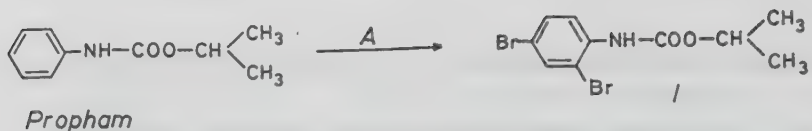
Formelschema 5.4.1. zeigt die Bromderivate, die bei der Reaktion entstehen. Ihre Struktur wurde durch Synthese, Elementaranalyse und Vergleich mit bekannten Verbindungen bestätigt.

Bei der Bromierung der drei Verbindungen mit einer Mischung aus Brom und Jod in Gegenwart von Wasser (Methode B) entstanden aus Chlorpropham und Swep die gleichen Derivate II und III, aus Propham jedoch ein Gemisch von 3 Bromprodukten. Zur analytischen Bestimmung ist deshalb Methode A besser geeignet.

I, II und III werden während der gaschromatographischen Bestimmung selbst bei einer Säulentemperatur von 200°C offenbar nicht zersetzt. Dies widerspricht der Beobachtung^{66,67)}, daß eine Halogensubstitution im Phenylring von Carbanilsäureestern die thermische Spaltung begünstigt. Danach müßte z.B. aus I das 2,4-Dibromanilin oder das 2,4-Dibromphenyl-isocyanat entstehen. Beide Verbindungen hatten jedoch bei der Gaschromatographie (10 % SE-30, 200°C) andere Retentionszeiten (RRT 20 bzw. 25) als I (RRT 70). Es ist daher anzunehmen, daß die bromierten Carbanilsäureester thermisch stabil sind.

Ebenso wie Propham, Chlorpropham und Swep ergibt auch Phenmedi-
pham bei der Bromierung nach Methode A ein Bromderivat (IV),

Formelschema 5.4.1.



das im Gaschromatogramm nur einen Peak zeigt und zur Rückstandsanalyse geeignet ist. Bei der Bromierung nach Methode B erhält man zusätzlich ein zweites Reaktionsprodukt (V). Da nur wenig Phenmedipham zur Verfügung stand, konnten IV und V noch nicht im präparativen Maßstab zur Strukturaufklärung hergestellt werden.

Die relativen Retentionszeiten und die relativen Nachweisempfindlichkeiten der bromierten Carbanilsäureester sind im Rahmen der Arbeitsvorschriften in Tabelle 6.6.2. wiedergegeben. Aus den RNE-Werten ergibt sich, daß der Nachweis dieser Bromderivate fast ebenso empfindlich ist wie für die Standardsubstanz Aldrin.

Aus Chlorbufam und Barban entstanden bei der Bromierung nach den Methoden A und B sowie in zahlreichen weiteren Versuchen keine einheitlichen Derivate; man erhielt mehrere Peaks verschiedener und wechselnder Größe. Sie stammten vermutlich von Produkten, bei denen auch die Dreifachbindung im aliphatischen Teil des Moleküls bromiert war. Sie störten den Nachweis der übrigen Wirkstoffe erst bei höheren

Konzentrationen. Chlorbufam und Barban können jedoch dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden.

5.4.2. Harnstoffe

5.4.2.1. Bisherige Arbeiten

Zahlreiche Veröffentlichungen befaßten sich mit der gaschromatographischen Bestimmung einzelner oder mehrerer Harnstoffe nebeneinander ¹⁷⁾, wobei man entweder die Wirkstoffe selbst oder nach der Hydrolyse die entsprechenden Aniline trennte und mit dem FID oder dem ECD nachwies. Aber nur bei den Harnstoffen, die mehrere Halogenatome enthalten, kam man in Verbindung mit dem ECD in einen Konzentrationsbereich, der für Rückstandsanalysen notwendig ist. Auch hier suchte man deshalb nach neuen Möglichkeiten für eine Bestimmung mit dem ECD.

Ebenso wie bei den Carbanilsäureestern stellte man keine Derivate her, die für die einzelnen Wirkstoffe spezifisch waren. In allen Fällen wurden die Harnstoffe hydrolysiert, wobei mehrere Wirkstoffe sowie ihre Metaboliten das gleiche Anilin ergaben.

Monuron wurde nach Hydrolyse und Umsetzung des 4-Chloranilins mit 4-Chlor- α, α, α -trifluor-3,5-dinitrobenzol oder α, α, α -4-Tetrafluor-3-nitrobenzol erfaßt ⁶⁹⁾. Auf ähnliche Weise gelang die Bestimmung von 6 Harnstoffen durch Erhitzen des Dünnschichtchromatogramms mit HCl und 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol auf 190°C und Elution der gebildeten 2,4-Dinitrophenylaniline ⁷⁰⁾.

Mit einer eleganten, aber arbeitsaufwendigen Methode ¹⁵⁾ wurden die Rückstände von 11 Harnstoffen bestimmt: Nach der Hydrolyse trennte man die Aniline durch Wasserdampfdestillation ab, diazotierte sie und

führte durch eine Sandmeyer-Reaktion ein Jodatomein. Die entstandenen Jodderivate konnten mit dem ECD in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden.

Beim Erhitzen von 6 Harnstoffen mit Eisessig und Schwefelsäure in Gegenwart von Brom und Jod während 1 Stunde auf 130°C sollten Dibromderivate der Aniline erhalten werden ^{71, 72)}. Aus Abbildungen der Gaschromatogramme geht hervor, daß bei Rückstandsanalysen die Pflanzeneinhaltsstoffe ebenfalls zahlreiche störende Peaks ergeben. Außerdem wurde berichtet ¹⁵⁾, daß dieses Verfahren in einem anderen Labor keine befriedigenden Ergebnisse lieferte. Eigene Untersuchungen zeigten daraufhin, daß die Bromierung nicht quantitativ verläuft, vermutlich weil die Bromkonzentration zu gering ist. Bei Ansätzen mit Monuron und Diuron im präparativen Maßstab erhielt man auch bei Verwendung einer höheren Bromkonzentration als in der Originalvorschrift angegeben nur ein Gemisch der entsprechenden Mono- und Dibromaniline.

5.4.2.2. Eigene Ergebnisse

Von den einfacheren Harnstoffabkömmlingen reagierten die N-Phenyl-N',N'-dimethylharnstoffe (Monuron, Diuron) wesentlich leichter mit Brom in Gegenwart von Jod als die N-Phenyl-N'-methoxy-N'-methylharnstoffe (Monolinuron, Linuron, Metobromuron). So ergaben Monuron und Diuron in Methylenchlorid die Monobromderivate VI und VII. Bei der Gaschromatographie auf einer unpolaren Methylsilikon-Säule zeigten die Peaks von VI und VII starkes Tailing, während die Reaktionsprodukte der übrigen Harnstoffe nur uncharakteristische, buckelförmige Peaks ergaben. Bei der Bromierung in Eisessig erhielt man bei Monuron ein Dibromderivat VIII, bei Diuron ein Gemisch aus Mono- und Dibromprodukt (VII und IX) und bei Monolinuron, Linuron und Meto-

bromuron lediglich Peaks mit sehr kurzer Retentionszeit und sehr starkem Tailing. Beide Lösungsmittel waren deshalb nicht zur quantitativen Bestimmung geeignet. Versuche mit anderen Lösungsmitteln schlugen ebenfalls fehl.

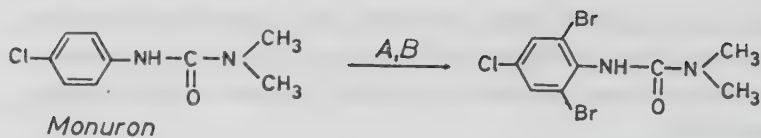
Löste man jedoch in Wirkstoffe direkt in einer Mischung aus Brom und Jod (95 + 5), so kam man bei allen fünf genannten Wirkstoffen zu Dibromderivaten. Sie zeigten alle bei der Gaschromatographie auf der unpolaren Säule jeweils nur einen intensiven Peak.

Diese Umsetzung mit Brom verlief aber schon dann nicht mehr quantitativ, wenn außer den Harnstoffen noch Spuren anderer organischer Substanzen anwesend waren. Setzte man z. B. 100 µg Monuron oder Diuron zu 100 ml Methylenchlorid zu und dampfte die Lösung ein, so erhielt man bei der Bromierung nur noch ein Gemisch der Mono- und Dibromprodukte. Offenbar wurde die Reaktion durch HBr gehemmt, das bei der Bromierung der Verunreinigungen in größerer Menge entstand.

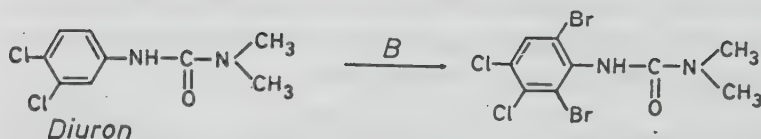
Abhilfe brachte erst der Zusatz einer kleinen Menge Wasser zu der Lösung der Harnstoffe in der Brom/Jod - Mischung. Anscheinend wird auf diese Weise genügend HBr aus der Bromlösung entfernt.

Das Formelschema 5.4.2. zeigt die Derivate, die bei der Reaktion mit Brom/Jod in Gegenwart von Wasser (Methode B) entstehen. Ihre Zusammensetzung wurde durch Elementaranalyse und Abbau zu den bekannten Anilinen bestätigt. Die Retentionszeiten der Bromverbindungen sind, zusammen mit den relativen Nachweisempfindlichkeiten, innerhalb der Arbeitsvorschriften in Tabelle 6.6.2. aufgeführt. Die entsprechenden Aniline haben ähnliche, aber doch deutlich verschiedene Retentionszeiten. Es ist deshalb anzunehmen, daß die Peaks von den unzersetzten Harnstoffen stammen.

Formelschema 5.4.2.



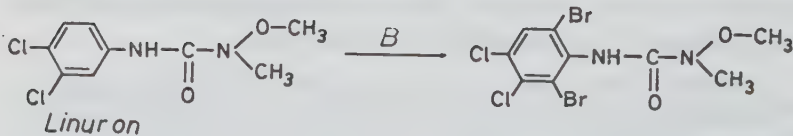
VIII



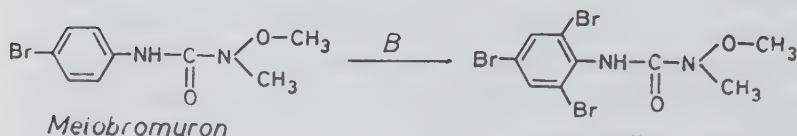
IX



X



XI



XII

Von Chloroxuron und Buturon konnten keine Derivate hergestellt werden, die für die gaschromatographische Bestimmung geeignet waren; man erhielt bei höheren Konzentrationen einige Peaks unterschiedlicher Intensität. Beide Wirkstoffe können jedoch auch dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden.

5.4.3. Anilide

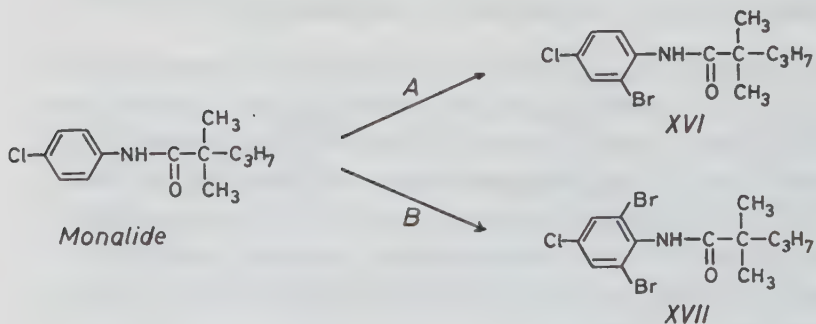
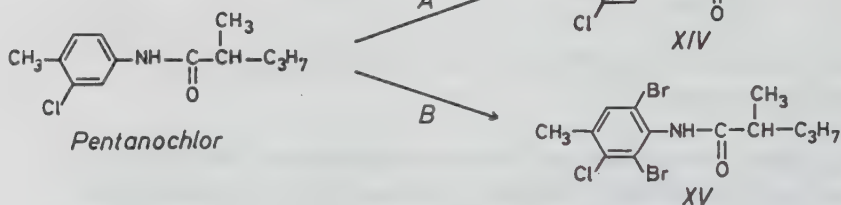
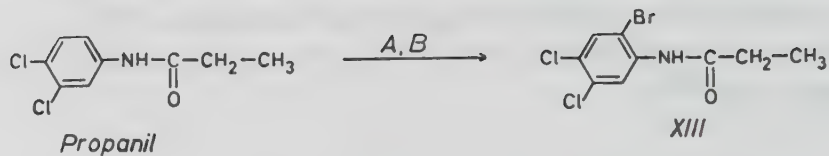
Von den Aniliden wurde bisher nur Propanil gaschromatographisch mit dem FID bestimmt ¹⁷⁾.

Die eigenen Versuche zeigten, daß die Bromierung nach Methode A mit Brom/Jod in Eisessig bei Propanil, Pentanochlor und Monalide zu einheitlichen Monobromprodukten XIII, XIV und XVI führt. Sie sind gut geeignet für die gaschromatographische Rückstandsanalyse.

Aber auch die Reaktion mit Brom/Jod in Gegenwart von Wasser (Methode B) kann zur Bestimmung der drei Anilide herangezogen werden. Aus Propanil entsteht dabei das gleiche Derivat XIII wie bei Methode A; Pentanochlor und Monalide ergeben dagegen Dibromderivate (XV und XVII). Trotz des höheren Bromgehaltes sind die entsprechenden Peaks weniger hoch als die der Monobromprodukte, da sie eine wesentlich längere Retentionszeit haben. Zur Rückstandsanalyse ist daher Methode A vorzuziehen.

Die Derivate, die nach beiden Methoden entstehen, sind in Formelschema 5.4.3. aufgeführt. Ihre Zusammensetzung wurde durch die Elementaranalyse bestätigt. Die gaschromatographischen Daten sind in Tabelle 6.6.2. enthalten.

Formelschema 5.4.3.



5.4.4. Piperonylbutoxid

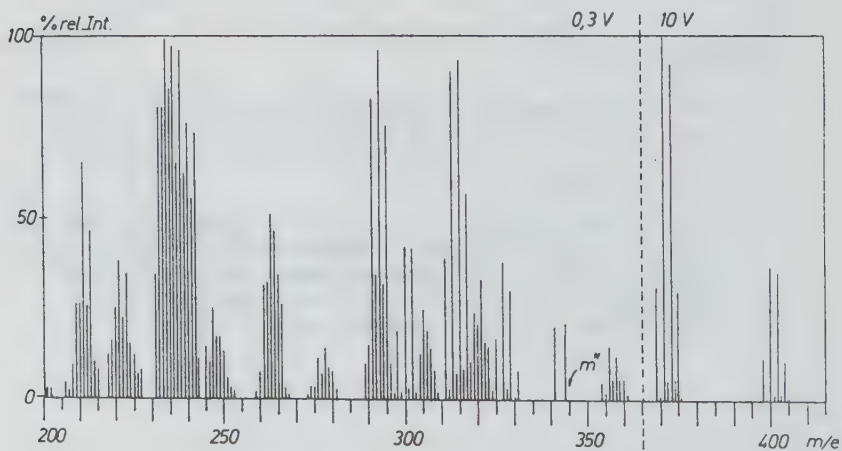
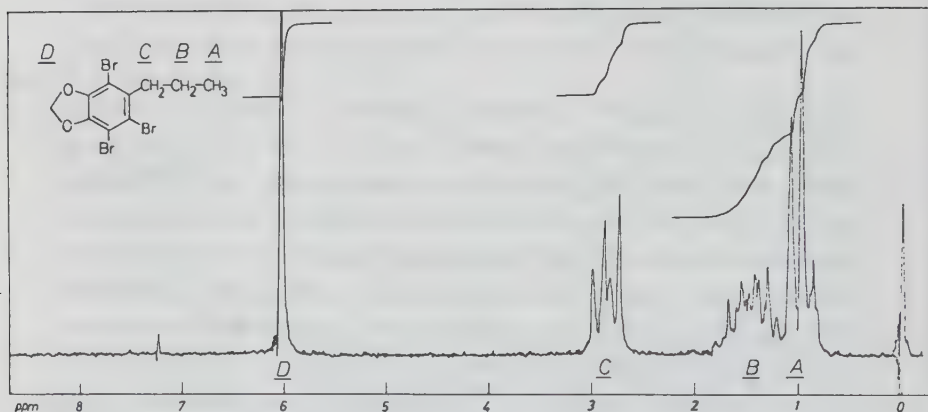
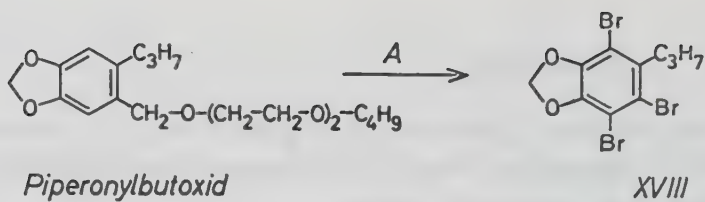
Da Piperonylbutoxid nicht mit dem ECD erfaßt werden kann, war der gaschromatographische Nachweis seiner Rückstände bisher nur in hohen Konzentrationen mit dem FID möglich.

Die eigenen Versuche ergaben, daß bei der Bromierung von Piperonylbutoxid mit Brom/Jod in Eisessig (Methode A) ein Bromprodukt entsteht, das einen empfindlichen Nachweis erlaubt. Nach Methode B entstand dagegen kein Derivat, das gaschromatographisch nachweisbar war.

Die Bestimmung des Bromgehaltes in dem nach A erhaltenen Reaktionsprodukt und das IR-Spektrum deuteten darauf hin, daß die Seitenkette des Piperonylbutoxids bei der Bromierung abgespalten wird. Ein Massenspektrum ⁺) ergab das Molekulargewicht 401; auf Grund des unübersichtlichen Spektrums erlaubte die Fragmentierung jedoch keine sicheren Rückschlüsse auf die Struktur. Das Molekulargewicht war nur mit der Struktur XVIII vereinbar, so daß man annehmen mußte, daß überraschenderweise auch die benzyllische CH₂-Gruppe bei der Bromierung mit entfernt worden war. Ein NMR-Spektrum ⁺⁺) bestätigte, daß die Verbindung XVIII vorlag, die bereits aus Arbeiten über Derivate des Isosafrols bekannt ist ¹¹⁹⁾.

+) Für die Aufnahme des Massenspektrums mit dem CH 4 - Gerät der Firma VARIAN-ATLAS und für seine Diskussion danke ich Herrn Dr. A. H a a g, Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg.

++) Das ¹H-NMR-Spektrum wurde in CDCl₃-Lösung mit TMS als innerem Standard mit dem 60 MHz-Gerät der Firma JEOL, Tokio, im Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg aufgenommen, wofür ich Herrn Univ. - Doz. Dr. K. G e i b e l bestens danke.



5.4.5. Säuren

5.4.5.1. Bisherige Arbeiten

Die meisten, als Herbizide verwendeten Säuren enthalten mehrere Halogenatome. Sie werden im allgemeinen als Methylester gaschromatographisch getrennt und können mit dem ECD nachgewiesen werden.

Eine Ausnahme machen MCPA, Mecoprop und MCPB, die nur ein Chloratom enthalten, sowie 1-Naphthylelessigsäure (NAA) und 2-Naphthoxyessigsäure (NOA). Sie werden durch den ECD erst in so hohen Konzentrationen erfaßt, wie sie bei einer Rückstandsanalyse nicht zu erwarten sind. Man versuchte deshalb, die Nachweisempfindlichkeit durch die Einführung von Nitrogruppen oder von Halogen in die Moleküle zu verbessern.

So wurden die Methylester von MCPA, MCPB und NAA mit der Lösung von Natriumnitrat in Phosphorsäure 15 Minuten lang auf 97°C erhitzt, wobei nicht näher identifizierte Nitroprodukte entstanden ⁷³⁾. Auch die Nitrierung von NOA-methylester scheint im analytischen Maßstab gelungen zu sein ⁷⁴⁾.

Ein Chloratom konnte man einführen, wenn man den 2-Chloräthylester von MCPA ⁷⁵⁾ und NAA ⁷⁶⁾ anstelle des Methylesters herstellte. Die vollständige Entfernung des überschüssigen 2-Chloräthanol scheint jedoch etwas problematisch zu sein. Ließ man MCPA oder MCPB in Tetrachlorkohlenstoff mit Brom in Gegenwart von Jod über Nacht stehen und stellte erst dann die Methylester her, so erhielt man von jeder Säure zwei Bromierungsprodukte ⁷⁷⁾.

5.4.5.2. Eigene Ergebnisse

Wie schon in einer eigenen, früheren Arbeit ⁷⁸⁾ beschrieben wurde, ergaben die Methylester von MCPA, Mecoprop und MCPB einheitliche Bromderivate, wenn sie in Methylenchlorid mit Brom in Gegenwart von Jod umgesetzt wurden. Bei MCPB war die Reaktion bereits nach 10 Minuten beendet, während für MCPA und Mecoprop eine Bromierungszeit von 2-4 Stunden erforderlich war. Die Bromkonzentration mußte über 5 % betragen.

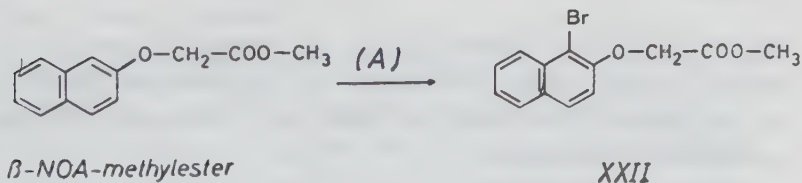
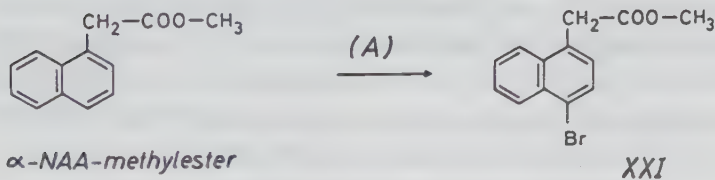
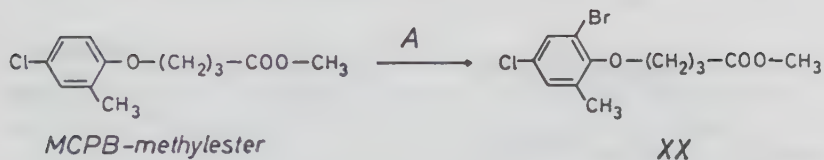
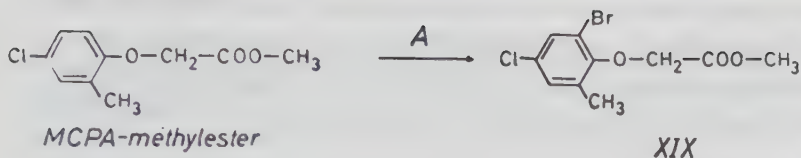
Nachdem sich die Bromierung in Eisessig (Methode A) bei anderen Pestiziden bewährt hatte, wurde auch die Umsetzung der Phenoxy-carbonsäureester in diesem Lösungsmittel geprüft. Erwartungsgemäß zeigte sich, daß man die gleichen Produkte erhielt wie bei der Bromierung in Methylenchlorid. Wegen der einfacheren Aufarbeitung der Ansätze ist nach den jetzigen Erfahrungen Methode A vorzuziehen.

Mit Methode B erhielt man Peaks mit größerer Retentionszeit, die offenbar von höher bromierten Produkten herrührten. Das Auftreten von Schultern und kleinen Nebenpeaks zeigte aber, daß die entstandenen Verbindungen nicht einheitlich waren. Für die analytische Bestimmung erschien deshalb Methode A besser geeignet zu sein.

Die Produkte, die bei der Reaktion von NAA- und NOA-methylester entstanden, zeigten im Gaschromatogramm keine Peaks. Sie stören deshalb den Nachweis von MCPA, Mecoprop und MCPB nicht.

Will man jedoch NAA und NOA selbst nachweisen, so arbeitet man in Methylenchlorid mit geringen Bromkonzentrationen und ohne Zusatz von Jod ⁷⁸⁾. Die dabei entstehenden Monobromderivate sind für den gaschromatographischen Nachweis noch ausreichend flüchtig. Wegen ihres geringen Bromgehaltes ist die Nachweisempfindlichkeit allerdings nicht so groß wie bei den übrigen Verbindungen.

Formelschema 5.4.5.



Die Bromderivate, die bei den Umsetzungen der Säuren entstehen, sind im Formelschema 5.4.5. aufgeführt. Ihre Zusammensetzung wurde durch Synthese und Elementaranalyse bestimmt. Die gaschromatographischen Daten finden sich bei den Arbeitsvorschriften in Tabelle 7.6.2.

5.4.6. N-Methylcarbamate

5.4.6.1. Bisherige Arbeiten

Die insektiziden N-Methylcarbamate, vor allem Carbaryl, werden in großem Umfang zur Schädlingsbekämpfung eingesetzt. Der gaschromatographische Nachweis ihrer Rückstände macht jedoch Schwierigkeiten: Die Wirkstoffe sind einerseits thermisch nicht stabil und zersetzen sich bei den notwendigen Säulentemperaturen zu den entsprechenden Phenolen ^{67, 79, 80)}. Andererseits enthalten die Moleküle keine funktionellen Gruppen, die den Nachweis mit dem ECD erlauben.

Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, die N-Methylcarbamate durch Bildung von Derivaten der Routineanalyse mit dem ECD zugänglich zu machen. In allen Fällen wurden die Moleküle der Wirkstoffe zum Phenol und Methylamin hydrolysiert.

Analysenmethoden, bei denen das entstandene Methylamin weiter umgesetzt wird ^{69, 81, 82)}, sind zu wenig spezifisch und nur brauchbar, wenn der verwendete Wirkstoff bekannt ist. In anderen Arbeiten bemühte man sich, Derivate der Phenole herzustellen. So wurden bei Carbaryl und Propoxur die Monochloracetate ⁸³⁾, bei Carbaryl, Mercaptodimethur und Propoxur die Trichloracetate ⁸⁴⁾ und (zum Nachweis mit einem phosphorspezifischen Detektor) bei Carbaryl, Propoxur und Promecarb die Thiophosphorylderivate ⁸⁵⁾ der entsprechenden Phenole gaschroma-

tographisch bestimmt.

Von diesen Verfahren schien die Bildung der Trichloracetate ⁸⁴⁾ gut brauchbar zu sein. Die eigene Überprüfung ergab, daß bei Carbaryl die gewünschte Nachweisempfindlichkeit durch die eingeführten drei Chloratome noch nicht erreicht wurde und daß die Trichloracetate von Promecarb und Propoxur eine recht kurze Retentionszeit hatten.

Beschrieben wurden außerdem die Reaktion von Carbaryl mit einer Lösung von Brom in Tetrachlorkohlenstoff im geschlossenen Rohr zu einem Gemisch von Bromderivaten ⁸⁶⁾, die Umsetzung der Phenole von Carbaryl und Mercaptodimethur mit Brom in Äther ⁸⁷⁾ sowie die Herstellung eines "bromierten 1-Naphthylacetats" durch Erhitzen von Carbaryl mit Eisessig und Schwefelsäure in Gegenwart von Brom und Jod während 10 Minuten bei 130°C ⁸⁸⁾. Ein eigener Versuch mit der letzten Methode zeigte, daß die Ausbeute bei dieser Bromierung nur unbefriedigend war.

5.4.6.2. Eigene Ergebnisse

Anscheinend zersetzten sich alle N-Methylcarbamate bei der Gaschromatographie. Es war daher nicht zu erwarten, daß man von den vier in der BRD zugelassenen Wirkstoffen durch eine Bromierung Derivate erhalten konnte, die direkt gaschromatographisch nachweisbar waren. Entsprechende Versuche ergaben auch keine befriedigenden oder reproduzierbaren Ergebnisse.

Dagegen sollte es möglich sein ⁹⁰⁾, N-Acetylderivate der N-Methylcarbamate ohne Zersetzung zu chromatographieren. Die dünnschichtchromatographische Überprüfung zeigte, daß aus den 4 Wirkstoffen mit Acetanhydrid in Gegenwart von Schwefelsäure innerhalb einer Stunde bei Raumtemperatur die N-Acetylderivate entstanden. Es gelang

jedoch nicht, diese Acetylverbindungen anschließend zu bromieren. Auch die umgekehrte Reaktionsfolge, bei der man die N-Methylcarbamate zunächst mit Brom umsetzte und dann die Bromderivate am Stickstoff acetylierte, führte nicht zum Erfolg.

Wollte man zu Bromverbindungen kommen, die thermisch stabil und mit dem ECD nachweisbar waren, so blieb nur folgender Ausweg: Man mußte die N-Methylcarbamate zunächst bromieren, dann hydrolysieren und die Phenole wiederum in weniger polare Produkte überführen, wobei die Acetate besonders einfach zugänglich waren. Vergleichende Untersuchungen zeigten, daß diese Arbeitsweise günstiger war als die umgekehrte Reihenfolge (Hydrolyse, Acetylierung, Bromierung der Phenolacetate).

Die Bromierung von Mercaptodimethur, Promecarb und Propoxur gelang am besten nach Methode B ohne Lösungsmittel mit Brom und Jod in Gegenwart von Wasser. Nach Hydrolyse und Acetylierung erhielt man im Gaschromatogramm jeweils nur einen Peak der Bromderivate. Die Umsetzung mit Brom und Jod in Eisessig (Methode A), Hydrolyse und Acetylierung führte bei Mercaptodimethur und Promecarb ebenfalls zu einheitlichen Derivaten, während bei Propoxur ein Gemisch aus zwei Produkten entstand. Für die Übersichtsanalyse war deshalb Methode B besser geeignet.

Carbaryl ergab nach Methode B keine gaschromatographisch nachweisbaren Phenolacetate. Vermutlich entstehen unter diesen drastischen Bedingungen hochbromierte Derivate, die nicht mehr ausreichend flüchtig sind. Mit Methode A erhielt man nur einen kleinen Peak, dessen Nachweisempfindlichkeit zu gering war. Der Nachweis von Mercaptodimethur, Promecarb und Propoxur wird also durch Carbaryl nicht gestört.

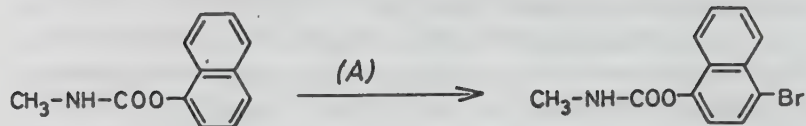
Der Nachweis von Carbaryl selbst gelang dagegen, wenn man (ähnlich

wie bei den beiden anderen Naphthylderivaten NAA und NOA) die Bromkonzentration verringerte und kein Jod als Katalysator zusetzte. Unter diesen Bedingungen erhielt man in Eisessig oder in Methylenchlorid das 4-Bromderivat, das nach Hydrolyse und Acetylierung gaschromatographisch erfaßbar war. Die anderen drei N-Methylcarbamate ergaben auf diese Weise keine Derivate und stören den Carbarylachweis nicht.

Zur Hydrolyse löste man alle bromierten N-Methylcarbamate in 0,2 ml methanolischer Natronlauge und entfernte das Lösungsmittel nach 15 Minuten durch Aufblasen eines leichten Luftstroms. Zur Acetylierung war es nicht notwendig, das freie, leichter flüchtige Phenol aus dem Phenolat zu isolieren. Es genügte, den Abdampfrückstand der alkalischen Hydrolyse mit Acetanhydrid und Pyridin 1 Stunde lang stehen zu lassen.

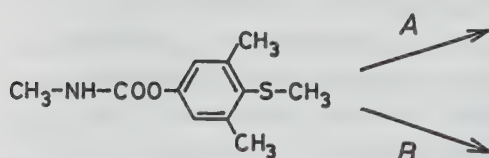
Die Formeln der Bromprodukte von Carbaryl, Mercaptodimethur und Promecarb sind im Schema 5.4.6. aufgeführt. Bemerkenswert ist, daß bei der Bromierung von Mercaptodimethur nach beiden Verfahren die Methylmercapto-Gruppe eliminiert wird, wobei die bereits bekannten Bromderivate des 3,5-Xylenyl-N-methylcarbamats entstehen. Promecarb ergibt nach Methode B ein dem "Tribromphenolbrom" analoges Ketobromid. Von Propoxur stand nicht genügend Vergleichssubstanz zur präparativen Darstellung der Bromprodukte zur Verfügung.

Schema 5.4.6.



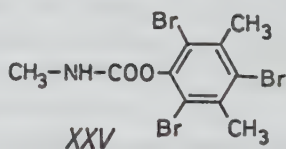
Carbaryl

XXIII

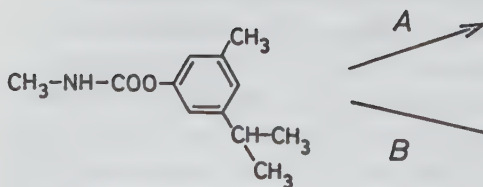


Mercaptodimethur

XXIV

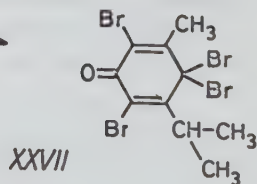


XXV



Promecarb

XXVI



XXVII

5.5. Aufarbeitung der Ansätze

Bei den Bromierungsansätzen in Methylenchlorid und ohne Lösungsmittel wurde versucht, nach beendeter Reaktion den Überschuß an Brom und Jod durch Aufblasen eines Luftstromes zu entfernen. Das Verfahren bewährte sich jedoch nicht, da gleichzeitig das entstandene HBr konzentriert wurde und zu unerwünschten Nebenreaktionen führte.

Wollte man die Halogene aus der Lösung in Methylenchlorid oder Eisessig durch Ausschütteln (z.B. mit Natronlauge) entfernen, so mußte man zunächst mit einem organischen Lösungsmittel verdünnen. Dazu war nur Methylenchlorid geeignet, weil alle anderen Lösungsmittel mit Brom reagierten und dann zu unbrauchbaren Gaschromatogrammen führten. Anschließend mußte das Methylenchlorid wegen seiner Unverträglichkeit mit dem ECD völlig abgedampft werden; den Abdampfrückstand löste man dann in Benzol. Diese Art der Aufarbeitung war zwar brauchbar und die einzig mögliche für die Bromierung in Methylenchlorid. Sie erfordert jedoch etwa 15 Minuten Arbeitszeit für jede Probe und bringt die Gefahr von Verlusten beim Eindampfen des Methylenchlorids.

Bei den Ansätzen mit Brom und Jod in Eisessig und ohne Lösungsmittel blieb die Möglichkeit, mit Wasser zu verdünnen, den Halogenüberschuß durch Reduktion zu entfernen und dann die Bromderivate aus wäßriger Suspension mit einem organischen Lösungsmittel auszuschütteln.

Bewährt hat sich nach zahlreichen Versuchen die folgende Arbeitsweise : Man gibt zu den Ansätzen zunächst 20 %ige Natriumacetatlösung zu, wobei eine Lösung vom pH 4-5 entsteht, und reduziert mit 5 %iger Natriumarsenitlösung. Natriumhypophosphit ist ebenso geeignet, nicht dagegen Natriumthiosulfat, da entstehender Schwefel die gaschromatographische Bestimmung stört. Die farblose Lösung wird zweimal mit

Benzol ausgeschüttelt; ein aliquoter Teil der Benzolphase kann nach dem Trocknen mit wenig Natriumsulfat direkt in den Gaschromatogrammen eingespritzt werden.

5. 6. Störungen durch Verunreinigungen

Bei der Extraktion der Proben und der Reinigung der Extrakte müssen größere Mengen (mindestens 500 ml) an Lösungsmitteln verwendet werden. Enthalten sie schwerflüchtige Verunreinigungen, so werden diese beim Eindampfen konzentriert und befinden sich dann zusammen mit den gesuchten Pestizidrückständen in den gereinigten Extrakten. Bei der Bromierung können sie ebenfalls Bromderivate ergeben und den Pestizidnachweis empfindlich stören.

Die handelsüblichen Lösungsmittel sind für diesen Zweck nicht rein genug. So ergaben die Abdampfrückstände von jeweils 100 ml zahlreicher Lösungsmittel von Analysenqualität nach der Bromierung bereits Gaschromatogramme, in denen störende Peaks die Bromderivate der Pestizide völlig überdeckten.

Von den geprüften Lösungsmitteln ließen sich nur Petroläther und Methylenchlorid durch fraktionierte Destillation über eine Kolonne ausreichend reinigen. Die Aufarbeitung der Proben wurde deshalb so angelegt, daß außer Acetonitril nur diese beiden Lösungsmittel verwendet werden müssen. Eine Reinigung über aktiviertes Aluminiumoxid wäre bei den enormen Lösungsmittelmengen für ein Rückstandslabor zu kostspielig und wurde deshalb nicht in Betracht gezogen.

Wenn man gereinigte Lösungsmittel verwendet und die nach der Bromierung erhaltenen 20 ml Benzollösung nochmals im Verhältnis 1 + 4

mit Benzol verdünnt, so erhält man beim Einspritzen von 5 µl Gaschromatogramme, die keine störenden Peaks mehr enthalten. Auch Bromderivate von Pflanzeninhaltsstoffen stören bei dieser Verdünnung nicht mehr.

5.7. Störungen durch Rückstände anderer Pestizide

Im allgemeinen prüft man den gereinigten Extrakt einer Probe vor der Bromierung auf Rückstände aller Pflanzenschutzmittel, die direkt mit dem ECD erfaßt werden können. Wird dabei ein Pestizidgehalt nachgewiesen, so ist wichtig zu wissen, wie sich diese Verbindungen bei der anschließenden Umsetzung mit Brom verhalten.

Die Überprüfung zahlreicher Wirkstoffe ergab, daß der Nachweis der Bromderivate von anderen Pestiziden, die selbst durch den ECD erfaßbar sind, nicht gestört wird. Die Peaks der meisten Wirkstoffe sind nach der Bromierung verschwunden; eine kleinere Anzahl von Pestiziden wird nicht verändert. Neue Peaks beobachtet man nur bei Phenakton und Endrin.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 5.7, zusammengefaßt. Nicht mit aufgeführt sind Wirkstoffe, die bei der Säulenchromatographie an Florisil bereits durch Petroläther eluiert werden, denn diese Fraktion wird nicht bromiert. Andererseits wurden auch Wirkstoffe aufgenommen, die nicht mit dem ECD, jedoch mit dem PD nachweisbar sind.

Tabelle 5.7.

Verhalten anderer Pestizide bei der Bromierung

+ : Peak des Ausgangsmaterials

0 : kein Peak

Pestizid	Bromierungsmethode		Florisilfraktion
	A	B	
<u>Chlorkohlenwasserstoffe</u>			
Chlorfenson	+	+	8 + 2
Dieldrin	+	+	8 + 2
Endosulfan A	+	+	P / 8 + 2
Endosulfan B	+	+	8 + 2
Endrin	+	+, x)	8 + 2
Heptachlorepoxyd	+	+	P / 8 + 2
Methoxychlor	0	0	8 + 2
Tetradifon	+	+	8 + 2
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-äthyl	0	0	M
Azinphos-methyl	0	0	6 + 4
Bromophos	0	0	P / 8 + 2
Chlorfenvinphos	0	0	6 + 4
Demeton-methyl	0	0	6 + 4
Demeton-methyl-SO	0	0	8 + 2
Diazinon	0	0	6 + 4
Dibrom	0	0	6 + 4
Dichlorvos	0	0	6 + 4
Dimethoat	0	0	M
Dioxathion	0	0	6 + 4

Pestizid	Bromierungsmethode		Florisilfraktion
	A	B	
Disulfoton	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Ethion	0	0	8 + 2
Fenitrothion	0	0	8 + 2
Fensulfothion	0	0	MM
Fenthion	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Malathion	0	0	6 + 4
Methidathion	0	0	6 + 4
Mevinphos	0	0	M / MM
Parathion	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Parathion-methyl	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Phenkapton	xx)	xx)	8 + 2
Phosphamidon	0	0	M / MM
Sulfotepp	0	0	8 + 2
Trichlorphon	0	0	M / MM
<u>Triazine</u>			
Zinchlor	0	0	8 + 2
Atrazin	0	0	6 + 4 / M
Prometryn	0	0	6 + 4 / M
Propazin	0	0	6 + 4 / M
<u>Verschiedene</u>			
Binapacryl	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Captan	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Chinomethionat	+	0	6 + 4
Chinothionat	+	0	8 + 2 / 6 + 4
Diallat	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Dichlobenil	+	+	8 + 2

Pestizid	Bromierungsmethode		Florisilfraktion
	A	B	
Dichlofluanid	0	0	8 + 2 / 6 + 4
Dinobuton	+	+	8 + 2
Dinosebacetat	+	+	8 + 2
Dithianon	0	0	M
Folpet	+	+	8 + 2 / 6 + 4
Rotenon	0	0	M
TOK	+	+	8 + 2
Triallat	0	0	8 + 2
TCTNB	+	+	8 + 2

Peaks auf 10 % SE-30 , 200°C :

x) RRT 370

xx) RRT 80

Bei der Durchführung der zahlreichen Versuche wurde ich von April 1968 bis August 1969 von Fräulein Brigitte L u e g, von September 1969 bis Juli 1971 von Fräulein Gertraud L i n d n e r unterstützt. Ihnen danke ich bestens für ihre sehr gewissenhafte und unermüdliche Mitarbeit.

6. Arbeitsvorschriften für die Rückstandsanalyse neutraler Pestizide

Reagentien und Geräte

Acetonitril, rein, destilliert unter Zusatz von etwa 2 g Silbernitrat oder etwa 20 g Phosphorpentoxid pro Liter.

Petroläther (Kp. 40-60°C), gewaschen mit konzentrierter Schwefelsäure, 2n Natronlauge und Wasser und anschließend destilliert.

Methylenchlorid, gewaschen mit konzentrierter Schwefelsäure, 2n Natronlauge und Wasser und anschließend destilliert.

Natriumsulfat, rein, wasserfrei, mindestens 1 Std. lang auf 500°C erhitzt.

Natriumchlorid, rein.

Florisil, synthetisches Magnesiumsilikat, 60-100 mesh. Das handelsübliche Produkt wird bei 130°C im Trockenschrank über Nacht getrocknet und nach dem Abkühlen im Exsikkator mit 5 % Wasser desaktiviert.

Brom, p. a.

Brom/Jod (95 + 5). 5 g fein gepulvertes Jod werden in 95 g Brom gelöst.

Eisessig, rein.

Natriumacetat, rein, krist. ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).

Natrium-meta-arsenit, p. a.

Benzol, rein.

Acetanhydrid, rein.

Pyridin, rein.

Besonders gereinigte Lösungsmittel zur Bromierung:

Petroläther (Kp. 40-60°C), destilliert über eine 90 cm hohe Füllkörperkolonne. Verwendet wurde die Fraktion mit dem Siedebereich von 35 - 50°C.

Methylenchlorid, destilliert über eine 50 cm hohe Kolonne mit Widmer - Spirale.

Außer den allgemein üblichen Laborgeräten werden verwendet:

Glassäulen von etwa 60 cm Länge und 1 cm Durchmesser mit Glashahn, deren oberes Ende jeweils zu einem Becher von 8 - 10 cm Länge und 3 cm Durchmesser erweitert ist und die ein Fassungsvermögen von etwa 120 ml besitzen.

Birnenkolben mit NS 14,5 , 25 ml Inhalt, lange Form.

6.1. Extraktion

100 g des Pflanzenmaterials werden in ein Haushaltsmixgerät (z. B. Starmix, Waring Blendor) gegeben und bei langsamer Geschwindigkeit des Gerätes etwa 15 Sekunden lang zerkleinert. Dann gibt man 100 ml Acetonitril zu und homogenisiert das Gemisch etwa 2 Minuten lang bei hoher Tourenzahl. Abschließend fügt man 10 g Celite zu und mischt nochmals kurz durch.

Der Inhalt des Mixbechers wird auf einer Porzellan-Nutsche von etwa 10 cm Durchmesser durch ein acetonitrilfeuchtes Filtrierpapier abgesaugt; den Filtrerrückstand preßt man mit einem Glasstopfen ab, bis er völlig trocken ist.

6.2. Aufarbeitung der Extrakte

6.2.1. Methode I

Das Filtrat bringt man in einen Scheidetrichter von 1000 ml Inhalt und fügt 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) zu. Man schüttelt kräftig durch, versetzt mit 600 ml Wasser und 20 ml gesättigter Natriumchloridlösung und schüttelt wiederum kräftig.

Die untere, wäßrige Phase wird abgelassen und noch zweimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden vereinigt und zweimal mit 300 ml Wasser gewaschen. Man trocknet etwa 15 Minuten lang mit wasserfreiem Natriumsulfat, dekantiert und engt die Lösung im Vakuum-Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur von weniger als 30°C bis fast zur Trockene ein. Den letzten Rest des Lösungsmittels vertreibt man durch Drehen des geneigten Kolbens und gleichzeitiges Anwärmen mit der Hand oder durch Aufblasen eines leichten Luft- oder Stickstoffstromes. Acetonitril

soll geruchlich nicht mehr wahrnehmbar sein.

6.2.2. Methode II

Das Filtrat des Acetonitrilextraktes von 6.1. bringt man in einen Scheidetrichter von 300 - 500 ml Inhalt und fügt 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) zu. Nach kurzem Durchschütteln wird mit 50 ml 10-prozent. Natriumchloridlösung versetzt und erneut kräftig geschüttelt.

Es entstehen 3 Phasen, von denen die unterste, wäßrige Phase abgelassen wird. Die beiden oberen, organischen Phasen werden beiseite gestellt. Die wäßrige Lösung wird noch zweimal mit je 100 ml Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt. Vereinigt man alle organischen Phasen, so entsteht eine homogene Lösung. Sie wird zweimal mit je 300 ml Wasser gewaschen und etwa 15 Minuten lang mit 10 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdekantieren engt man die Lösung im Vakuum-Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur von weniger als 30°C bis fast zur Trockene ein. Den letzten Rest des Lösungsmittels vertreibt man durch Aufblasen eines leichten Luft- oder Stickstoffstromes, bis der leichte Geruch nach Acetonitril verschwunden ist.

6.3. Säulenchromatographie an Florisil

An den Boden einer Chromatographiesäule schiebt man mit Hilfe eines Glasstabes einen Glaswollepfropf und füllt dann bis zum Ansatz des Bechers mit Petroläther. In das Lösungsmittel läßt man 5 g Florisil (5 % Wasser) einrieseln. Wenn sich das Florisil nach etwa 1 Minute zu einer 6 - 7 cm hohen Schicht abgesetzt hat, wird der Petroläther ab-

gelassen, bis er etwa 1 cm hoch über der Säulenfüllung steht. Durch das Einschieben eines zweiten Glaswollepfropfens reinigt man die Säulenwandung von noch anhaftendem Florisil und verhindert ein Aufwirbeln der Füllung bei der anschließenden Zugabe von Lösungsmitteln.

Der Abdampfdruckstand, den man nach 6.2.1. (Aufarbeitung I) oder nach 6.2.2. (Aufarbeitung II) erhalten hat, wird in 10 ml Petroläther gelöst. Man gibt die Lösung auf die Säulenfüllung und läßt sie langsam einziehen.

Nun eluiert man die Säule nacheinander mit

100 ml	Petroläther		(Fraktion "P"),
100 ml	Petroläther/Methylenchlorid	8+2	(Fraktion "8+2"),
100 ml	Petroläther/Methylenchlorid	6+4	(Fraktion "6+4"),
100 ml	Methylenchlorid		(Fraktion "M") und
100 ml	Methylenchlorid/Methanol	95+5	(Fraktion "MM").

Der Abdampfkolben wird dabei jeweils mit den ersten 10 ml des Elutionsmittels ausgespült. Die Tropfgeschwindigkeit stellt man so ein, daß pro Minute etwa 10 ml Eluat erhalten werden. Ein Trockenlaufen der Säule ist zu vermeiden.

Die Eluate werden im Vakuum-Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur von weniger als 30°C zunächst bis auf etwa 10 ml eingeengt. Man überführt die Lösung in ein Birnenkölbchen und dampft weiter bis auf rund 0,5 ml ein. Das restliche Lösungsmittel wird durch Drehen des Kolbens unter gleichzeitigem Anwärmen mit der Hand oder durch Aufblasen eines schwachen Luft- oder Stickstoffstroms entfernt.

Je nach dem gewünschten Umfang der Untersuchung können bei der Elution einzelne Fraktionen ausgelassen werden.

In den Abdampfrückständen der einzelnen Fraktionen können die Pestizide nach den folgenden Methoden nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden:

- Gaschromatographie mit dem ECD (6.4.),
- Gaschromatographie mit dem PD,
- Dünnschichtchromatographie (6.5.) und
- Bromierung (6.6.1.) und anschließende Gaschromatographie der Derivate mit dem ECD (6.6.2.).

Wie sich aus der Auftrennung der Wirkstoffe an der Florisilsäule (Tabelle 2.2.3-1) ergibt, werden diese vier Nachweismethoden jeweils für folgende Fraktionen verwendet:

Fraktion:	P	8+2	6+4	M	MM
GC (ECD)	+	+	+		
GC (PD)		+	+	+	+
DC	+	+	+	+	+
Br + GC (ECD)		+	+	+	

6.4. Gaschromatographie mit dem Elektroneneinfangdetektor

6.4.1. Gerätebedingungen

Gaschromatograph F & M, Baureihe 700-10.

Detektor: Zusätzlich eingebauter Nickel-63-Elektroneneinfangdetektor (2 mc), Hewlett-Packard, Modell 700 A-3/04, Pulsspannung 30 V, gewähltes Pulsintervall 150 μ sek.

Elektrometer eines Gaschromatographen Hewlett-Packard der Baureihe 5750 G; Empfindlichkeit: voller Skalenausschlag auf einem 1 mV-Schreiber bei $1,0 \times 10^{-12}$ A (Bereich 1, Dämpfung 1); gewählte Arbeitsbedingungen: Bereich 10, Dämpfung 32.

Schreiber Honeywell, 1 mV.

Trennsäulen: 1 m Glasrohr, 1/4 ", Innendurchmesser 3,5 mm.

Säulenfüllungen: 10 % SE-30 oder 15 % QF-1, beide auf Chromosorb W AW/DMCS (60-80 mesh).

Trärgas: 120 ml/min. Argon/Methan 95 + 5 (Prüfgas Linde), gereinigt durch Molekularsieb 5 Å (Merck Nr. 5709).

Temperatur des Einspritzblocks 220°C.

Temperatur des Detektors 290-300°C.

Temperatur des Säulenofens 200°C bei 10 % SE-30 bzw. 185°C bei 15 % QF-1 . Retentionszeit von Aldrin in beiden Fällen etwa 2 min. Höhe des Peaks von 0,1 ng Aldrin: 40-60 % der Schreiberbreite.

6.4.2. Arbeitsweise und Auswertung

Die Abdampfrückstände der Florisileluate P , 8+2 und 6+4 (6.3.) werden in jeweils 5 ml Benzol gelöst. 5 µl dieser Lösungen spritzt man in den Gaschromatographen ein, am zweckmäßigsten auf die SE-30-Säule.

In geeigneten Abständen, z. B. nach jeder dritten Analyse, kontrolliert man die Retentionszeit des Standards und die Empfindlichkeit des Detektors, indem man eine bekannte Menge (z. B. 0,1 ng) Aldrin in benzolischer Lösung einspritzt.

Zur Auswertung der Chromatogramme mißt man die Retentionszeiten der gefundenen Peaks und des Aldrins, berechnet daraus die relativen Re-

tentionszeiten, bezogen auf Aldrin = 100 (RRT - Werte), und vergleicht sie mit den RRT-Werten der verschiedenen Pestizide. Diese Werte sind für jede der drei Florisilfraktionen in Tabelle 6.4.2. aufgeführt. Bei Wirkstoffen, die zusätzlich noch in einer zweiten Fraktion auftreten können, ist diese Fraktion in Klammern mit angegeben. Dies ist besonders bei der quantitativen Bestimmung zu beachten.

Deutet der RRT-Wert eines Peaks auf die Anwesenheit eines Pestizids, so analysiert man die Lösung als nächstes mit der QF-1-Säule. Wenn auch hier der RRT-Wert des Peaks mit dem des vermuteten Pestizids übereinstimmt, kann man die quantitative Bestimmung anschließen.

Wegen der schwankenden Empfindlichkeit des ECD ist es nicht ratsam, früher aufgestellte Eichkurven zu verwenden. Die besten Ergebnisse werden erhalten, wenn man anschließend an die Analysenlösung ähnliche Konzentrationen des vermuteten Wirkstoffes einspritzt und die gefundenen Peakhöhen vergleicht. Der in Frage kommende Konzentrationsbereich läßt sich leicht durch die RNE-Werte abschätzen, die in Tabelle 6.4.2. mit aufgeführt sind. Sie geben an, wieviel ng des betreffenden Pestizids einen ebenso hohen Peak ergeben wie 1 ng Aldrin, solange man im Linearitätsbereich des Detektors arbeitet.

Tabelle 6.4.2.

Relative Retentionszeiten und relative Nachweisempfindlichkeiten für die Pestizide in den Florisilfraktionen P, 8+2 und 6+4.

Florisil-fraktion	Pestizid	10 % SE-30		15 % QF-1	
		RRT	RNE	RRT	RNE
P	Tecnazen	30	0,4	55	0,8
	Trifluralin	34	0,8	104	4,3
	Lindan	45	0,3	83	1,0
	HCB	45	0,4	45	0,8
	Quintozen	48	0,7	87	1,1
	Dichloran (8 + 2)	50	1,2	130	3,5
	Heptachlor	77	1,1	88	1,8
	Aldrin	100	1,0	100	1,0
	Bromophos (8 + 2)	105	2,5	192	3
	Heptachlorepoxyd (8 + 2)	125	1,2	195	2,5
	Chlorbensid	150	6	195	6
	Endosulfan A (8 + 2)	150	1,7	250	6
	DDE	175	1,4	210	2,5
	DDD	230	2,4	375	6
	Tetrasul	260	8	305	8
	DDT	300	3,3	410	6
8+2	Dichlobenil	< 10	0,7	36	1,2
	Diallat (6 + 4)	37	14	46	35
	TCTNB	48	1,4	175	15
	Demeton-me-SO	50	10	95	18
	Dichloran (P)	50	1,2	130	3,5
	Disulfoton (6 + 4)	50	8	95	15
	Triallat	58	1,5	65	4
	Parathion-me (6 + 4)	70	9	280	18

Florisil- fraktion	Pestizid	10 % SE-30		15 % QF-1	
		RRT	RNE	RRT	RNE
8 + 2	Dinosebacetat	80	12	-	-
	Dichlofluanid (6 + 4)	85	1,3	315	7
	Fenitrothion	88	8	335	12
	Parathion (6 + 4)	95	7	360	20
	Bromophos (P)	105	2,5	192	3
	Heptachlorepoxid (P)	125	1,2	195	2,5
	Captan (6 + 4)	125	8	420	22
	Folpet (6 + 4)	130	13	380	22
	Dinobuton	140	12	-	-
	Endosulfan A (P)	150	1,7	250	6
	Chlorfenson	170	10	540	12
	Chinothionat (6 + 4)	170	9	245	6
	Dieldrin	185	1,5	290	4,5
	Endosulfan B	205	4	460	18
	Binapacryl (6 + 4)	210	12	-	-
	Endrin	220	1,5	350	11
	Nitrofen	220	10	580	11
	Ethion	240	8	510	23
	Phenkapton	430	15	750	15
	Methoxychlor	440	12	580	20
	Tetradifon	510	25	1850	45
6 + 4	Diallat (8 + 2)	37	14	46	35
	Disulfoton (8 + 2)	50	8	95	15
	Diazinon	50	10	70	25
	Parathion-me (8 + 2)	70	9	280	18
	Dichlofluanid (8 + 2)	85	1,3	315	7
	Malathion	85	16	280	75

Florisil- fraktion	Pestizid	10 % SE-30		15 % QF-1	
		RRT	RNE	RRT	RNE
6 + 4	Parathion (8 + 2)	95	7	360	20
	Captan (8 + 2)	125	10	420	22
	Folpet (8 + 2)	130	10	380	22
	Chlorfenvinphos	130	3,1	360	25
	Chinomethionat	155	5	240	6
	Chinothionat (8 + 2)	170	9	245	6
	Binapacryl (8 + 2)	210	18	-	-

6.5. Dünnschichtchromatographie

Die Abdampfrückstände der Florisileluate von 6.3. werden jeweils in 0,1 - 0,2 ml Acetonitril gelöst. Die Lösungen trägt man mit einer Blutzuckerpipette auf die Startpunkte von Dünnschichtplatten auf, daneben die Lösungen von etwa 5 - 10 µg der vermuteten Wirkstoffe.

Als Trägermaterial dient Kieselgel mit Gips als Bindemittel (z.B. Kieselgel G Merck) in einer Schichtdicke von 250 µm. Zum Nachweis der Chlorkohlenwasserstoffe verwendet man besser Platten von Aluminiumoxid mit Gips als Bindemittel (z.B. Aluminiumoxid G Merck); sie werden zweimal nacheinander aufsteigend mit Aceton/Wasser (1 + 1) ausgewaschen. In beiden Fällen werden die beschichteten Platten 1 Stunde lang bei 105°C aktiviert.

6. 5. 1. Chlorkohlenwasserstoffe

Fließmittel: Petroläther (Kp. 40-60°C) (Kammersättigung).

Sprühmittel ⁶⁰⁾: 0,5 g Silbernitrat werden in 100 ml Äthanol gelöst. Nach dem Besprühen legt man die Platte etwa 10 Minuten lang unter eine Lampe mit kurzwelligem UV-Licht, deren Filter entfernt wurde. Anschließend besprüht man mit wenig Wasser und bringt die Platte erneut unter die UV-Lampe. Nach etwa einer Minute erscheinen die Flecke der Vergleichssubstanzen schwarz auf fast farblosem Untergrund. Die Nachweisgrenze liegt in der Größenordnung von 0,05 µg.

Pestizid	hRf	Pestizid	hRf
Endosulfan B	2	DDT	50
Methoxychlor	3	Chlorbensid	50
Tetradifon	8	Tecnazen	52
Chlorfenson	10	Heptachlor	60
Dieldrin	12	DDE	65
TCTNB	12	Quintozen	70
Endrin	15	Tetrasul	70
Lindan	20	Aldrin	75
DDD	23	HCB	77
Endosulfan A	23		
Heptachlorepoxyd	30		

6. 5. 2. Andere halogenhaltige Verbindungen

Fließmittel: Benzol (Kammersättigung)

Sprühmittel: Silbernitratlösung und Bestrahlen mit kurzwelligem UV-Licht wie unter 6. 5. 1.

Pestizid	hRf	Pestizid	hRf
Chlorfenvinphos	4	Fenthion	55
Dichlorvos	7	Triallat	57
Dibrom	8	Dichlobenil	60
Captan	20	Bromophos	65
Folpet	40	Phenkapton	68
Dichlofluanid	42	Nitrofen	70
Diallat	53		

6. 5. 3. Phosphorsäureester

Fließmittel: Petroläther/Aceton, 7 + 3, (Kammersättigung).

Sprühmittel 1 ⁶⁴⁾ : 2-prozent. Lösung von 4-(p-Nitrobenzyl)-pyridin in Aceton. Nach dem Besprühen erwärmt man die Platte 5 Minuten lang im Trockenschrank bei 110⁰ und besprüht nach dem Abkühlen mit einer 20-prozent. Lösung von Tetraäthylenpentamin in Aceton. Es entstehen blaue Flecke.

Sprühmittel 2 ^{61, 62)} : 0,5-prozent. Lösung von Palladiumchlorid in 0,1 n Salzsäure. Es entstehen gelbe Flecke. Chlorthion, Fenitrothion, Methylparathion, Parathion, Fensulfothion und Diazinon werden erst nach einiger

Zeit braun angefärbt.

Sprühmittel 3^{42, 63)}: 2-prozent. Lösung von 2.6-Dibromchinon-4-chlorimid in Eisessig. Nach dem Besprühen wird die Platte einige Minuten im Trockenschrank bei 105°C erwärmt, bis die Flecke erscheinen.

Pestizid	hRf	Sprühmittel		
		1	2	3
Dimethoat	21	blau	gelb	orange
Fensulfothion	22	(+)	(+)	rot
Trichlorphon	23	blau	-	-
Phosphamidon	29	blau	-	-
Mevinphos	40	(blau)	-	-
Demeton-methyl	42	blau	gelb	grau
Azinphos-methyl	46	blau	gelb	rot
Dichlorphos	49	(blau)	-	-
Dibrom	51	(blau)	-	-
Azinphos-äthyl	53	-	gelb	rot
Chlorfenvinphos	56	(blau)	-	-
Methidathion	57	blau	gelb	rot
Malathion	60	blau	gelb	rot
Parathion-methyl	60	blau	braun	rot
Fenitrothion	61	blau	braun	rot
Dioxathion	65	violett	gelb	rot
Fenthion	66	blau	gelb	violett
Parathion	70	blau	braun	rot
Sulfotepp	71	(blau)	gelb	rot
Diazinon	71	rosa	gelb	rot
Fortsetzung: Seite 111				

Pestizid	hRf	Sprühmittel		
		1	2	3
Fortsetzung von S. 110 :				
Phenkapton	72	(blau)	gelb	rot
Bromophos	72	blau	(+)	(+)
Ethion	72	(+)	gelb	rot
Disulfoton	76	-	gelb	grau
Demeton-me-SO	-	-	gelb	grau

6.5.4. Carbamate, Harnstoffe und Anilide

Fließmittel: Petroläther/Aceton, 8 + 2 (Kammersättigung).

Sprühmittel ⁶⁵⁾ : 0,25 g p-Dimethylaminobenzaldehyd werden in 50 ml Eisessig gelöst. Zu der Lösung gibt man 5 ml Phosphorsäure 85 % und 20 ml Wasser.

Nach dem Besprühen werden die Platten im Trockenschrank etwa 10 Minuten lang auf 150°C erhitzt, wobei gelbe Flecke entstehen.

Pestizid	hRf	Pestizid	hRf
Chloroxuron	12	Mercaptodimethur ⁺⁾	34
Monuron	15	Linuron	35
Phenmedipham	18	Promecarb ⁺⁾	40
Diuron	20	Barban	40
Carbaryl ⁺⁺⁾	27	Swep	42
Propoxur ⁺⁾	29	Chlorbufam	43
Buturon	33	Pentanochlor	50
Metobromuron	33	Monalide	56
Monolinuron	33	Propham	56
Propanil	34	Chlorpropham	56

⁺⁾ Flecke bräunlich, ⁺⁺⁾ Flecke rötlich

Gute Auftrennungen können auch mit dem Fließmittelgemisch Tetrachlorkohlenstoff / Nitromethan 8 + 2 (Kammersättigung) erzielt werden. Dabei ist darauf zu achten, daß das Nitromethan genügend rein ist, da sonst nach dem Besprühen der Untergrund rasch gelb wird.

6.5.5. Triazine

Fließmittel ⁹⁰⁾ : Chloroform / Aceton, 9 + 1 (Kammersättigung).

Sprühmittel 1 : Silbernitratlösung und Bestrahlen mit kurzwelligem UV-Licht wie bei 6.5.1.

Sprühmittel 2 : 4-(p-Nitrobenzyl)-pyridin / Tetraäthylenpentamin wie bei 6.5.3.

Sprühmittel 3 : Dragendorff's Reagens nach Munier und Macheboeuf ⁹¹⁾.

	hRf	Sprühmittel		
		1	2	3
Simazin	40	schwarz	rot	-
Atrazin	47	schwarz	rot	-
Propazin	53	schwarz	rot	-
Prometryn	60	-	-	orange
Zinchlor	70	schwarz	rot ⁺⁾	-

+) schon vor dem ersten Erhitzen

6.5.6. Verschiedene Verbindungen

6.5.6.1. Verbindungen mit Nitrogruppen:

Fließmittel: Benzol (Kammersättigung)

Sprühmittel ⁹²⁾ : Zunächst eine Mischung aus Benzylcyanid und Aceton (1 + 1), anschließend eine 10-prozent. Lösung von Benzyltrimethylammoniumhydroxid (Triton B) in Methanol. Die Platte wird nach dem Besprühen im Trockenschrank bei 105°C erwärmt, bis der Untergrund sich rotbraun zu färben beginnt.

Pestizid	hRf	Farbreaktion beim Erwärmen
Rhodandinitrob.	50	violett
Parathion-methyl	51	gelb
Dinosebacetat	55	gelb → braun
Dichloran	55	gelb → orange
Fenitrothion	56	blaugrün
Parathion	56	blaugrün
Dinobuton	61	olivbraun → schwarz
Binapacryl	67	oliv → blauschwarz
Tecnazen	77	grün
TCTNB	80	violett → braun
Quintozen	81	blaugrau

6.5.6.2. Chinothionat, Chinomethionat, Dithianon

Fließmittel : Benzol/Chloroform 8 + 2 (Kammersättigung).

Sprühmittel : Diäthylamin.

Pestizid	hRf	Farbe
Chinothionat	50	gelborange
Chinomethionat	53	gelborange
Dithianon	42	blauschwarz

6.5.6.3. Rotenon

Fließmittel : Benzol/Aceton 9 + 1, hRf 50.

Sprühmittel ⁹³⁾ : Mischung aus 1 ml 5 n Kaliumjodidlösung und 30 ml Phosphorsäure 45 %. Blauer Fleck, der sich beim Erwärmen verstärkt.

6.5.6.4. Piperonylbutoxid

Fließmittel : Petroläther/Äther 7 + 3, hRf 40.

Sprühmittel ⁹⁴⁾ : 1 ml einer 10-prozent. Lösung des Natriumsalzes der Chromotropsäure werden mit 5 ml 60-prozent. Schwefelsäure gemischt. Nach halbstündigem Erwärmen auf 105°C blauschwarzer Fleck.

6. 6. Analyse von Bromderivaten

6. 6. 1. Herstellung der Derivate

6. 6. 1. 1. Methode A

Die Abdampfrückstände der Florisileluate 8+2, 6+4 und M werden im Birnenkölbchen in jeweils 0,5 ml Eisessig gelöst. Zu jeder Lösung gibt man unter Umschütteln 5 Tropfen Brom/Jod (95 + 5) aus einer Pipette und läßt das Gemisch 10 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen.

Dann versetzt man mit 10 ml Natriumacetatlösung 10 % und 5 ml Natriumarsenitlösung 5 %, überführt die farblose, trübe Lösung in einen kleinen Scheidetrichter und schüttelt unter Nachspülen des Kölbchens zweimal mit je 10 ml Benzol aus. Die vereinigten Benzolphasen werden in einem großen Reagensglas durch Zugabe von etwa 1 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

6. 6. 1. 2. Methode B

Zu den Abdampfrückständen der Florisileluate 8+2, 6+4 und M, die sich in Birnenkölbchen befinden, gibt man jeweils 0,1 ml Wasser und 0,1 ml Brom/Jod (95 + 5). Man verschließt die Kölbchen mit einem Glasstopfen und dreht sie einige Male, so daß die Glaswand am Boden des Gefäßes an allen Stellen von Brom benetzt wird. Dann läßt man unter gelegentlichem Umschwenken 10 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen.

Nach Zugabe von 10 ml Natriumacetatlösung 10 % und 5 ml Natriumarsenitlösung 5 % schüttelt man einige Male um, bis sich das Brom völlig gelöst hat. Man überführt die farblose, trübe Lösung in einen kleinen Scheidetrichter und schüttelt sie unter Nachspülen des Kölbchens zweimal mit

je 10 ml Benzol aus. Die vereinigten Benzolphasen werden in einem großen Reagensglas durch Zugabe von etwa 1 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

6.6.1.3. Verfahren für N-Methylcarbamate

Bromierung:

Zur Bestimmung von Carbaryl löst man den Abdampfrückstand des Florisileluates 6+4 in 0,5 ml Eisessig, gibt unter Umschütteln 1 Tropfen eines Gemisches aus 1 Teil Brom/Jod (95 + 5) und 4 Teilen Eisessig zu und läßt 10 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen.

Mercaptodimethur, Promecarb und Propoxur, die in den Florisileluaten 6+4 und M erscheinen, werden ebenso bromiert, wie es bei Methode B 6.6.1.2. beschrieben ist.

Hydrolyse und Acetylierung:

Im Gegensatz zu den Methoden A und B schüttelt man die mit Natriumacetat- und Natriumarsenitlösung verdünnten Ansätze hier einmal mit 10 ml Methylenchlorid aus.

Die Methylenchloridphase wird mit wenig wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und im Birnenkölbchen zur Trockene eingedampft. Den Abdampfrückstand löst man in 0,2 ml 1-prozent. methanolischer Natronlauge und läßt 15 Minuten lang stehen. Nachdem man die geringe Menge Methanol durch Aufblasen eines leichten Luftstroms entfernt hat, gibt man 0,5 ml Acetanhydrid und 0,1 ml Pyridin zu und läßt etwa 1 Stunde lang stehen.

Nach Zugabe von 20 ml Natriumacetatlösung 20 % wartet man einige Minuten, bis sich das Acetanhydrid gelöst hat, und schüttelt anschließend mit 10 ml Benzol aus. Die Benzolphase wird nacheinander mit 10 ml

0,5 n Schwefelsäure und 10 ml 0,5 n Natriumkarbonatlösung gewaschen und mit wenig wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

6.6.2. Gaschromatographie

Die Benzollösungen der Bromderivate, die man nach 6.6.1.1., 6.6.1.2. oder 6.6.1.3. erhalten hat, werden im Verhältnis 1 + 4 mit Benzol verdünnt. 5 µl dieser Verdünnung werden in den Gaschromatographen eingespritzt.

Die Arbeitsbedingungen sind die gleichen, die im Abschnitt 6.4. beschrieben wurden. Die relativen Retentionszeiten, bezogen auf Aldrin = 100 (RRT), und die relativen Nachweisempfindlichkeiten (ng/1 ng Aldrin, RNE) sind in Tabelle 6.6.2. aufgeführt.

Bei manchen Pestiziden erhält man nach Methode A oder B verschiedene Bromderivate. Wo sich die Peaks der Derivate am besten zur quantitativen Bestimmung eignen, sind die Namen der Wirkstoffe unterstrichen. Bei Verbindungen, die zusätzlich noch in einer zweiten Fraktion auftreten können, ist diese Fraktion in Klammern mit angegeben.

Tabelle 6.6.2. Relative Retentionszeiten und relative Nachweisempfindlichkeiten für Bromderivate von Pestiziden in den Florisilfraktionen 8+2, 6+4 und M.

Bromierung	Florisil-fraktion	Pestizid	Derivat	10 % SE-30		15 % QF-1	
				RRT	RNE	RRT	RNE
Methode A (6.6.1.1.)	8 + 2	<u>Swep</u> (6+4)	III	67	1,5	104	1,1
		<u>Propham</u>	I	70	1,1	96	1,0
		<u>Chlorpropham</u>	II	132	1,9	180	1,4
	6 + 4	<u>Swep</u> (8+2)	III	67	1,5	104	1,1
		<u>Monalide</u>	XVI	100	3,0	144	2,5
		<u>Propanil</u>	XIII	107	2,3	195	1,7
		<u>Pentanochlor</u>	XIV	147	3,5	240	2,5
		<u>Piperonylbutoxid (M)</u>	XVIII	160	4,0	160	5
	M	<u>Phenmedipham</u>	IV	31	1,3	38	0,8
		<u>Monuron</u>	VIII	33	0,8	42	1,3
		<u>Diuron</u>	VII, IX	(28, 64)	-	(44, 80)	-
		<u>Piperonylbutoxid (6+4)</u>	XVIII	160	4,0	160	5

Bromierung	Florisil- fraktion	Pestizid	Derivat	10 % SE-30		15 % QF-1	
				RRT	RNE	RRT	RNE
Methode B (6.6.1.2.)	8 + 2	<u>Monolinuron</u> (6+4)	X	34	0,9	42	1,1
		<u>Metobromuron</u> (6+4)	XII	47	1,0	57	1,2
		<u>Linuron</u> (6+4)	XI	64	1,4	80	1,6
		<u>Swep</u> (6+4)	III	67	1,5	104	1,1
		<u>Chlorpropham</u>	II	132	1,9	180	1,4
	6 + 4	<u>Monolinuron</u> (8+2)	X	34	0,9	42	1,1
		<u>Metobromuron</u> (8+2)	XII	47	1,0	57	1,2
		<u>Linuron</u> (8+2)	XI	64	1,4	80	1,6
		<u>Swep</u> (8+2)	III	67	1,5	104	1,1
		<u>Propanil</u>	XIII	107	2,3	195	1,7
		<u>Monalide</u>	XVII	230	7,5	480	7,5
		<u>Pentanochlor</u>	XV	390	12	-	-
	M	<u>Monuron</u>	VIII	33	0,8	42	1,3
		<u>Diuron</u>	IX	64	1,0	80	1,3
		<u>Phenmedipham</u>	IV	(31)	-	(38)	-
			V	75	4,0	83	1,5

Bromierung	Florisil- fraktion	Pestizid	Derivat	10 % SE-30		15 % QF-1	
				RRT	RNE	RRT	RNE
6.6.1.3.	6 + 4	<u>Carbaryl</u>		70	20	185	30
		<u>Mercaptodimethur</u>		108	2,1	180	1,6
		<u>Promecarb</u>		145	4,0	210	3,0
		<u>Propoxur (M)</u>		152	18	355	30
	M	<u>Propoxur (6+4)</u>		152	18	355	30

7. Arbeitsvorschriften für die Rückstandsanalyse saurer Pestizide
in Anwesenheit neutraler Verbindungen

Reagentien und Geräte

Zusätzlich zu den unter 6. beschriebenen Reagentien und Geräten werden benötigt:

Natriumhydrogenkarbonat, rein.

Natriumkarbonat, rein, krist. ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$).

Diazomethanlösung¹⁰¹⁾: 10 g N-Nitrosomethylharnstoff werden im Abzug unter dauerndem Schwenken in 100 ml Äther eingetragen, der mit 35 ml Kalilauge 40 % unterschichtet ist. Die Temperatur darf dabei 5°C nicht übersteigen. 10 Minuten nach der letzten Zugabe gießt man die Ätherlösung ab und trocknet sie 3 Std. lang über festem Kaliumhydroxid. Die Lösung wird in einer nicht dicht verschlossenen Flasche aufbewahrt und ist im Gefrierfach eines Kühlschranks etwa 1 Woche lang haltbar.

Diazomethanlösung, besonders gereinigt: Diazomethan wird aus der Ätherlösung bei Raumtemperatur mit Hilfe eines schwachen Stickstoffstroms in eine Vorlage destilliert, die mit Eis/Kochsalz - Mischung gekühlten Äther enthält.

7.1. Extraktion

100 g des Pflanzenmaterials bringt man in ein Haushaltsmixgerät (z.B. Starmix, Waring Blendor) und zerkleinert sie etwa 15 Sekunden lang bei geringer Tourenzahl. Nach Zugabe von 100 ml Acetonitril wird etwa 2 Minuten lang bei hoher Geschwindigkeit homogenisiert. Schließlich gibt man etwa 10 g Celite zu und mischt nochmals kurz durch.

Den Inhalt des Mixbechers saugt man auf einer Porzellan-Nutsche von etwa 10 cm Durchmesser durch ein acetonitrilfeuchtes Filtrierpapier ab. Der Filterrückstand wird mit einem Glasstopfen trocken gepreßt.

7.2. Aufarbeitung der Extrakte

7.2.1. Methode I / 1

Das Filtrat bringt man in einen Scheidetrichter von 1000 ml Inhalt, gibt 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) zu und schüttelt kräftig durch. Anschließend versetzt man mit 600 ml Wasser, 20 ml gesättigter Natriumchloridlösung sowie etwa 2 ml Phosphorsäure (85 %) und schüttelt wiederum kräftig.

Die untere, wäßrige Phase, deren pH-Wert etwa 3 betragen soll, wird abgelassen und noch zweimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt. Die drei organischen Phasen werden vereinigt und nacheinander zweimal mit je 200 ml Natriumhydrogenkarbonatlösung 1 % und einmal mit 200 ml Natriumkarbonatlösung 1 % gewaschen.

Die verbleibende organische Phase wird etwa 15 Minuten lang mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, abdekantiert und im Vakuum-Rotationsverdampfer bis eben zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Florisil (6.3.) gereinigt und dient zum Nach-

weis der neutralen Verbindungen.

Die alkalischen wäßrigen Lösungen werden vereinigt, mit 2n Salzsäure angesäuert und zweimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt. Man trocknet die organische Lösung mit wenig wasserfreiem Natriumsulfat und engt sie nach dem Abdekantieren in einem Vakuum-Rotationsverdampfer bis eben zur Trockene ein. Der Abdampfrückstand wird nach 7.2.4. mit Diazomethan methyliert.

7.2.2. Methode I / 2

In das Filtrat des Extraktes von 7.1. taucht man die Glaselektrode eines pH-Meßgerätes und gibt unter Rühren so lange Natriumkarbonatlösung 1 % zu, bis nach einem Verbrauch von etwa 10 ml ein pH-Wert von 9 erreicht ist. Die Lösung wird in einen Scheidetrichter von etwa 1000 ml Inhalt überführt und dreimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt.

Die organischen Phasen werden vereinigt. Wird mit der Anwesenheit von PCP oder Dinitrophenolen gerechnet, so wäscht man zunächst mit 200 ml Natriumkarbonatlösung 1 % und gibt diese Lösung zum verdünnten alkalischen Acetonitrilextrakt zurück. Die verbleibende organische Phase wird noch zweimal mit je 300 ml Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum-Rotationsverdampfer bis eben zur Trockene eingengt. Soll nicht auf PCP und Dinitrophenole geprüft werden, so genügt es, insgesamt zweimal mit je 300 ml Wasser zu waschen. Der Abdampfrückstand, der die neutralen Verbindungen enthält, wird nach 6.3. durch Säulenchromatographie an Florisil weiter gereinigt.

Der verdünnte, alkalische Acetonitrilextrakt wird mit 2n Salzsäure angesäuert und dann nochmals dreimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen,

die nun die Säuren und Phenole enthalten, wäscht man zweimal mit je 300 ml Wasser, trocknet mit wasserfreiem Natriumsulfat und engt in einem Vakuum-Rotationsverdampfer bis eben zur Trockene ein. Der Abdampfrückstand wird anschließend nach 7.2.4. methyliert.

7.2.3. Methode II

Das Filtrat des Acetonitrilextraktes von 7.1. wird zunächst ebenso aufgearbeitet, wie es für den Nachweis der neutralen Pestizide allein beschrieben wurde (6.2.2.) : Man überführt die Lösung in einen Scheidetrichter von 300 - 500 ml Inhalt, fügt nacheinander 100 ml Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) und 50 ml Natriumchloridlösung 10 % zu und schüttelt kräftig.

Von den entstehenden 3 Phasen wird die unterste, wäßrige Lösung abgelassen; die beiden oberen, organischen Phasen werden beiseite gestellt. Die wäßrige Lösung wird mit etwa 1 ml Phosphorsäure 85 % angesäuert, so daß sie einen pH-Wert von etwa 3 aufweist, und dann nochmals zweimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) ausgeschüttelt.

Vereinigt man die drei organischen Phasen, so erhält man eine homogene Lösung. Sie wird nacheinander zweimal mit je 200 ml Natriumhydrogenkarbonatlösung 1 % und einmal mit 200 ml Natriumkarbonatlösung 1 % gewaschen. Die verbleibende organische Phase trocknet man mit wasserfreiem Natriumsulfat und engt sie im Vakuum-Rotationsverdampfer zur Trockene ein. Sie dient nach Reinigung an einer Florisil-Säule (6.3.) zum Nachweis der neutralen Verbindungen.

Die alkalischen, wäßrigen Lösungen werden vereinigt, mit 2 n Salzsäure angesäuert und zweimal mit je 100 ml Petroläther/Methylenchlorid (8+2) ausgeschüttelt. Die organische Phase, die die Säuren und Phenole enthält, wird nach dem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat in einem Vakuum-

Rotationsverdampfer zur Trockene eingeengt und anschließend nach 7.2.4. methyliert.

7.2.4. Methylierung

Der Abdampfrückstand, den man nach einer der oben beschriebenen Aufarbeitungsmethoden 7.2.1., 7.2.2. oder 7.2.3. erhält, wird in 0,5 ml Methanol gelöst und mit 1 ml Diazomethanolösung versetzt. Nach etwa 10 Minuten taucht man die Lösung in ein Wasserbad von 30 - 40°C und dampft sie durch Aufblasen eines leichten Luft- oder Stickstoffstromes bis eben zur Trockene ein.

7.3. Säulenchromatographie an Florisil

Die Reinigung des methylierten Extraktes erfolgt auf ähnliche Weise, wie es unter 6.3. für die neutralen Verbindungen beschrieben wurde. Man eluiert die Säule unter Nachspülen des Kolbens nacheinander mit

100 ml Petroläther

150 ml Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2)

50 ml Methylenchlorid und

100 ml Methylenchlorid/Methanol (99 + 1).

Das Methylenchlorid-Eluat wird verworfen. Die Petroläther-Fraktion enthält nur den Methyläther von PCP, die Fraktion Methylenchlorid/Methanol (99 + 1) nur Flurenol-methylester. Wenn nicht auf diese beiden Verbindungen geprüft werden soll, genügt es, die Säule nur mit 150 ml Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) zu eluieren. PCP würde dann ebenfalls in dieser Fraktion erscheinen.

Die Eluate werden im Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur unter 30°C zunächst auf etwa 10 ml und dann im Birnenkölbchen bis auf etwa

0,5 ml eingedampft. Den Rest des Lösungsmittels entfernt man durch Drehen und leichtes Anwärmen des Kolbens mit der Hand oder durch Aufblasen eines leichten Luft- oder Stickstoffstromes.

7.4. Gaschromatographie mit dem Elektroneneinfangdetektor

Die Abdampfrückstände der Florisileluate von 7.3. werden in jeweils 5 ml Benzol gelöst. 5 µl dieser Lösungen spritzt man in den Gaschromatographen ein, am zweckmäßigsten auf die Säule mit 10 % SE-30.

Die Arbeitsbedingungen des Gaschromatographen sind die gleichen, wie sie bereits unter 6.4. für den Nachweis der neutralen Pestizide beschrieben wurden. Als Ofentemperatur wurde für den Betrieb mit den drei Säulen 10 % SE-30, 15 % QF-1 und 5 % Versamid 900 jeweils 175°C gewählt.

Die relativen Retentionszeiten, bezogen auf Aldrin = 100 (RRT), und die relativen Nachweisempfindlichkeiten (RNE, ng für Peakhöhe von 1 ng Aldrin) für die Methylderivate der bearbeiteten Säuren und Phenole auf den drei Säulen sind in Tabelle 7.4. wiedergegeben.

Tabelle 7.4. Relative Retentionszeiten und relative Nachweisempfindlichkeiten für Methylderivate von Säuren und Phenolen.

Methylderivat von	10 % SE-30		15 % QF-1		5 % V. 900	
	RRT	RNE	RRT	RNE	RRT	RNE
2,6-DBz	11	0,4	27	0,9	12	0,4
Dicamba	18	0,5	42	1,2	18	0,4
Bromoxynil	28	0,4	85	1,4	50	0,4
Dichlorprop	28	2,7	57	8	28	4
2,4-D	30	3,8	77	19	45	4
DNOC	37	1	220	5	80	6,5
PCP	43	0,2	53	0,5	47	0,3
2,4,5-TP	49	0,9	91	2,5	52	1,2
2,4,5-T	51	1,4	125	7	82	1,3
Dinoseb	68	1,8	320	9	97	13
Ioxynil	73	1,7	188	7	215	8
Flurenol	76	11	195	60	290	25
2,4,5-TB	127	3,5	290	27	180	4
2,3,5-TIBA	260	12	360	40	-	-

7. 5. Dünnschichtchromatographie

Trägermaterial: Kieselgel G (Merck), Schichtdicke 250 μm ,
1 Std. bei 105°C aktiviert. Vor dem Nachweis der halogenhaltigen Verbindungen werden die Platten zweimal aufsteigend mit Aceton/Wasser (1 + 1) ausgewaschen und erneut aktiviert.

Fließmittel: Petroläther/Äther (9 + 1), Kammersättigung.

Nachweis halogenhaltiger Verbindungen.

Sprühmittel ⁶⁰⁾ : 0,1 g Silbernitrat löst man in 1 ml Wasser und verdünnt mit 10 ml 2-Phenoxyäthanol und 190 ml Aceton. Nach dem Besprühen erwärmt man die Platte kurz im Trockenschrank und legt sie anschließend unter eine Lampe mit kurzwelligem UV-Licht, bis sich der Untergrund graubraun färbt.

Die chlorhaltigen Verbindungen ergeben dabei kräftige schwarze Flecke. Bromoxynil ergibt einen weißen Fleck mit braunem Saum, Ioxynil und 2,3,5-TIBA einen weißen Fleck mit violetter Saum. Bei allen Halogenverbindungen liegt die Nachweisgrenze unter 1 μg . Etwa 10 μg DNOC oder Dinoseb ergeben braune Flecke.

Nachweis der Dinitrophenol-methyläther ⁹⁵⁾ .

Sprühmittel 1 : 3 ml einer 15-prozent. Lösung von Zinn(II)-chlorid in 0,5 n Salzsäure werden mit 15 ml konz. Salzsäure und 180 ml Wasser verdünnt. Nach kurzem Erwärmen der Platte im Trockenschrank bei 105°C besprüht man mit Sprühmittel 2 : Die Lösung von 1 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 30 ml Äthanol wird unter Zusatz von 3 ml konz. Salzsäure mit 180 ml n-Butanol verdünnt. Noch mit 0,2 μg DNOC und Dinoseb entstehen deutliche, braunorangefarbene Flecke.

Die Halogenverbindungen und die Dinitrophenole können mit diesen Sprühmitteln nacheinander auf derselben Platte nachgewiesen werden.

Tabelle 7.5. hRf - Werte der Methylderivate von Säuren und Phenolen.

Methylderivat von:	hRf	Methylderivat von:	hRf
2,4-D	21	Ioxynil	50
DNOC	24	2,4,5-TP	50
2,4,5-TB	27	Mecoprop	53
2,4,5-T	31	Dicamba	55
MCPB	31	Bromoxynil	59
MCPA	35	2,3,5-TIBA	64
Dichlorprop	44	2,6-DBz	72
Dinoseb	49	PCP	97

7.6. Analyse von Bromderivaten

7.6.1. Herstellung der Derivate

7.6.1.1. Methode A für MCPA, Mecoprop und MCPB :

Der Abdampfrückstand des Florisileluats mit Petroläther / Methylenchlorid (8 + 2) wird bromiert, wie es unter 6.6.1.1. beschrieben ist. Die Reaktionszeit beträgt 2 Stunden. Soll nur MCPB nachgewiesen werden, so ist eine Reaktionszeit von 10 Minuten ausreichend.

7.6.1.2. Verfahren für NAA und NOA :

Der Abdampfrückstand des Florisileluats mit Petroläther/Methylenchlorid (8 + 2) wird in 1 ml Methylenchlorid gelöst. Zum Nachweis von α -NAA gibt man einen Tropfen Brom/Jod (95 + 5) zu, zum Nachweis von β -NOA einen Tropfen einer 20-prozent. Lösung von Brom in Methylenchlorid.

Nach einer Reaktionszeit von 5 Minuten bei Raumtemperatur wird die Lösung in beiden Fällen mit 20 ml Methylenchlorid verdünnt und in einem kleinen Scheidetrichter mit 5 ml 2n Natronlauge ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit 10 ml Wasser gewaschen, mit wenig wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und in einem Birnenkölbchen mit dem Vakuum-Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft. Der Abdampf-
rückstand wird in 10 ml Benzol gelöst.

7.6.2. Gaschromatographie mit dem ECD

Die Arbeitsbedingungen sind die gleichen wie zum Nachweis der Methyl-
derivate saurer Verbindungen vor der Bromierung.

Tabelle 7.6.2.

Relative Retentionszeiten und relative Nachweisempfindlichkeiten
für Bromderivate der Methylester von Säuren.

Methylester von	Brom- Derivat	10 % SE-30		15 % QF-1		5 % V. 900	
		RRT	RNE	RRT	RNE	RRT	RNE
Mecoprop		47	1,6	77	3	50	2,5
MCPA	XIX	48	1,8	93	5	68	3,5
NAA	XXI	104	7	210	22	225	15
MCPB	XX	107	4,8	190	11	145	13
NOA	XXII	170	20	-	-	-	-

8. Präparative Darstellung der Bromderivate

Allgemeine Angaben

Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert und wurden im Kupferblock nach Lindström ermittelt.

Die verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien waren von gleicher Reinheit wie die unter 6. angegebenen Produkte.

Die Elementaranalysen wurden bei A. Bernhardt, Mülheim (Ruhr), oder bei F. und E. Pascher, Bonn, ausgeführt.

Die Reinheit der hergestellten Verbindungen wurde durch Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Man verwendete Kieselgel G nach Stahl der Firma E. Merck AG., Darmstadt, und jeweils die unter 7.5. beschriebenen Fließmittelsysteme.

Um die Struktur der hergestellten Derivate zu sichern, wurden von allen Verbindungen die Infrarotspektren in KBr-Preßlingen mit einem Perkin-Elmer-Infracord-Spektralphotometer, Modell 137, aufgenommen.

Alle Verbindungen zeigten im Gaschromatogramm auf einer Säule mit 10 % SE-30 und unter den bei 6.4.1. beschriebenen Bedingungen die gleichen Retentionszeiten wie die Produkte, die man durch eine entsprechende Bromierung (6.6.1. bzw. 7.6.1.) von 100 µg der Wirkstoffe erhielt.

Zur Bestimmung des Halogengehaltes bei 8.8. und 8.26 wurde ein Aufschluß in der Wurzschmitt-Bombe durchgeführt und anschließend mit Zink in schwefelsaurem Medium reduziert. Bei der potentiometrischen Titration mit 0,1 n Silbernitratlösung diente ein blankes Silberblech als Meß-

elektrode und eine gesättigte Kalomelelektrode als Bezugselektrode. Zur Anzeige der Spannungsänderung verwendete man das Universal-pH-Meter 22 der Fa. Radiometer, Kopenhagen. Die größte Spannungsänderung zeigte jeweils den Endpunkt der Titration an.

8.1. Bromierungsmethode A (präparativer Maßstab)

Zu der Lösung von 1 g des Ausgangsmaterials in 100 ml Eisessig gab man 5 ml Brom/Jod (95 + 5). Nach 10 Minuten wurden 300 ml Natriumacetatlösung 20 % und 200 ml Natriumarsenitlösung 5 % zugegeben; die farblose Suspension extrahierte man zweimal mit je 100 ml Methylenchlorid. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 2n Sodalösung und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Das erhaltene Rohprodukt reinigte man durch Kristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel.

8.2. Bromierungsmethode B (präparativer Maßstab)

Zu dem Gemisch aus 25 g Brom/Jod (95 + 5) und 10 g Wasser gab man in kleinen Portionen innerhalb von 1 Minute 1 g des Ausgangsmaterials. Nach 10 Minuten wurden 300 ml Natriumacetatlösung 20 % und 200 ml Natriumarsenitlösung 5 % zugegeben. Die beim kräftigen Umschütteln entstandene farblose Suspension extrahierte man zweimal mit je 100 ml Methylenchlorid. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 2n Sodalösung und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Das erhaltene Rohprodukt reinigte man durch Kristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel.

8.3 - 7. Derivate der Carbanilsäureester

8.3. 2.4-Dibromcarbanilsäure-isopropylester (I)

a) Aus Propham

Bei der Bromierung von Carbanilsäure-isopropylester (Propham) nach Methode A erhielt man durch Kristallisation aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. $84-86^{\circ}\text{C}$.

$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{Br}_2\text{NO}_2$ (337,0)	Ber.:	C = 35,64 %	H = 3,29 %
	Gef.:	C = 35,60 %	H = 3,34 %

b) Aus 2.4-Dibromanilin

Die Lösung von 2,5 g (10 mMol) 2.4-Dibromanilin, 0,8 g (10 mMol) Pyridin und 1,34 g (11 mMol) Chlorameisensäure-isopropylester in 20 ml Äther blieb 2 Stunden lang bei Raumtemperatur stehen ⁹⁶⁾. Nach dem Verdünnen mit Äther wurde die Lösung mit 0,5 n Schwefelsäure, 0,5 n Sodalösung und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Die Kristallisation des Abdampfrückstandes aus Methanol ergab farblose Nadeln vom Schmp. $84-85^{\circ}\text{C}$. Sie schmolzen im Gemisch mit dem nach a) erhaltenen Produkt ebenfalls bei $84-85^{\circ}\text{C}$.

Einige Kristalle wurden im Schmelzpunktsröhrchen während 10 Minuten auf 225°C erhitzt. Ein Dünnschichtchromatogramm mit dem Fließmittel Petroläther/Aceton (98 + 2) zeigte, daß sich die Verbindung dabei nicht zersetzt hatte.

8. 4. 2. 4-Dibromphenyl-isocyanat

0,5 g I wurden mit 1 g Phosphorpentoxid innig vermischt ⁹⁷⁾. Bei einer Vakuum-Destillation gingen bei 140°C / 15 Torr einige Tropfen farbloses Destillat über, das kristallin erstarrte und dann einen Schmp. von 80-82°C zeigte.

8. 5. 2. 4-Dibrom-5-chlorcarbanilsäure-isopropylester (II)

Bei der Bromierung von 3-Chlorcarbanilsäure-isopropylester (Chlorpropham) nach Methode A kristallisierten aus Methanol farblose Stäbchen vom Schmp. 117-118°C.

$C_{10}H_{10}Br_2ClNO_2$	(371,5)	Ber.:	C = 32,33 %	H = 2,71 %
		Gef.:	C = 32,50 %	H = 2,67 %

8. 6. 2. 4. 6-Tribrom-3-chloranilin

Zur Lösung von 0,5 g Chlorpropham in 20 ml Eisessig, 5 ml konz. Schwefelsäure und 0,5 ml Wasser gab man 100 ml Eisessig (jodgesättigt, 5 % Brom) und erhitzte 1 Stunde lang im Ölbad auf 130°C ⁷¹⁾. Nach dem Abkühlen wurde das Gemisch in 1 l Eiswasser gegossen, mit 200 g Natronlauge 50 % neutralisiert und zweimal mit je 200 ml Petroläther ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der Petrolätherphasen mit wasserfreiem Natriumsulfat und Eindampfen i. V. verblieb ein bräunlicher, fester Rückstand. Durch Umkristallisieren aus Methanol/Wasser (5 + 1) erhielt man farblose Nadeln vom Schmp. 125,5 - 126°C (Schmp. ⁹⁸⁾ Lit. : 124 - 125°C).

8. 7. 2-Brom-4.5-dichlorcarbanilsäure-methylester (III)

Bei der Bromierung von 3.4-Dichlorcarbanilsäure-methylester (Swep) nach Methode B erhielt man farblose Kristalle vom Schmp. $87-89^{\circ}\text{C}$ (aus Petroläther).

$\text{C}_8\text{H}_6\text{BrCl}_2\text{NO}_2$ (298,9)	Ber.:	Br = 26,74 %	Cl = 23,73 %
	Gef.:	Br = 26,85 %	Cl = 23,56 %

8. 8 - 14. Derivate der Harnstoffe

8. 8. N-(2-Brom-4-chlorphenyl)-N'.N'-dimethylharnstoff (VI)

Zu 5 ml Brom/Jod (95 + 5) gab man 0,3 g N-(4-Chlorphenyl)-N'.N'-dimethylharnstoff (Monuron) und ließ das Gemisch 1 Stunde lang stehen. Die Hauptmenge des Broms wurde durch einen Luftstrom entfernt; der Rückstand wurde in 150 ml Methylenchlorid gelöst. Die Lösung wurde mit 2n Natronlauge, 2n Salzsäure und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Man erhielt ein fast farbloses Öl, das durch Chromatographie an einer Säule mit 10 g Kieselgel (Merck, 0,2 - 0,5 mm, aktiviert bei 130°C) gereinigt wurde. Durch Elution mit 100 ml Petroläther/Aceton (9 + 1) ergab sich ein fast farbloses Öl, das im Dünnschichtchromatogramm mit dem Fließmittel Petroläther/Aceton 8 + 2 nur einen Fleck zeigte und langsam zu einem Produkt mit dem Schmp. $40-44^{\circ}\text{C}$ kristallisierte.

80,6 mg Substanz: Verbrauch 0,1n AgNO_3 -Lösung (F = 1,065)
= 2,60 ml (1. Umschlag) bzw. 5,20 ml (2. Umschlag).

$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{BrClN}_2\text{O}$ (277,5)	Ber.:	Br = 28,8 %	Cl = 12,8 %
	Gef.:	Br = 27,5 %	Cl = 12,2 %

8. 9. N-(2.6-Dibrom-4-chlorphenyl)-N'.N'-dimethylharnstoff (VIII)

a) Aus Monuron

Die Bromierung von N-(4-Chlorphenyl)-N'.N'-dimethylharnstoff (Monuron) nach Methode B ergab bei der Kristallisation aus Äthanol/Wasser (1 + 3) farblose Blättchen vom Schmp. 171-174°C.

$C_9H_9Br_2ClN_2O$ (356,4)	Ber.:	Br = 44,85 %	Cl = 9,95 %
	Gef.:	Br = 44,91 %	Cl = 9,81 %

b) Aus VI

Die Lösung von 0,2 g VI in 10 ml Eisessig wurde mit 5 ml Brom/Jod (95 + 5) versetzt und 4 Stunden lang stehengelassen. Nach Eingießen in 100 ml Methylenchlorid wurde die Lösung mit 2n Natronlauge und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Nach Auskochen des Rückstandes mit Petroläther erhielt man ein schwach bräunliches Pulver, das beim Kristallisieren mit Diisopropyläther farblose Kristalle vom Schmp. 172-174°C ergab.

8. 10. N-(2.6-Dibrom-3.4-dichlorphenyl)-N'.N'-dimethylharnstoff (IX)

Die Bromierung von N-(3.4-Dichlorphenyl)-N'.N'-dimethylharnstoff (Diuron) nach Methode B und die Kristallisation aus Äthanol/Wasser (1 + 1) ergab farblose Blättchen vom Schmp. 185-187°C.

$C_9H_8Br_2Cl_2N_2O$ (390,9)	Ber.:	Br = 40,89 %	Cl = 18,14 %
	Gef.:	Br = 41,28 %	Cl = 18,04 %

8. 11. N-(2. 6-Dibrom-4-chlorphenyl)-N'-methoxy-N'-methylharnstoff (X)

Die Bromierung von N-(4-Chlorphenyl)-N'-methoxy-N'-methylharnstoff (Monolinuron) nach Methode B und die Kristallisation aus Cyclohexan lieferten schwach bräunliche Kristalle vom Schmp. 145-147⁰C.

$C_9H_9Br_2ClN_2O_2$ (372, 4)	Ber.:	Br = 42, 92 %	Cl = 9, 52 %
	Gef.:	Br = 43, 44 %	Cl = 9, 60 %

8. 12. N-(2. 6-Dibrom-3. 4-dichlorphenyl)-N'-methoxy-N'-methylharnstoff (XI)

Bei der Bromierung von N-(3. 4-Dichlorphenyl)-N'-methoxy-N'-methylharnstoff (Linuron) nach Methode B kristallisierte aus Cyclohexan ein farbloses Kristallpulver vom Schmp. 125-126⁰C.

$C_9H_8Br_2Cl_2N_2O_2$ (406, 9)	Ber.:	Br = 39, 28 %	Cl = 17, 43 %
	Gef.:	Br = 39, 53 %	Cl = 17, 54 %

8. 13. N-(2. 4. 6-Tribromphenyl)-N'-methoxy-N'-methylharnstoff (XII)

N-(4-Bromphenyl)-N'-methoxy-N'-methylharnstoff (Metobromuron) ergab bei der Bromierung nach Methode B und der Kristallisation aus Cyclohexan farblose Nadeln vom Schmp. 145-147⁰C.

$C_9H_9Br_3N_2O_2$ (416, 9)	Ber.:	Br = 57, 51 %
	Gef.:	Br = 57, 55 %

8. 14. Hydrolyse der Bromderivate von Harnstoffen

0,3 g des Bromderivats eines Harnstoffs wurden mit 10 ml Eisessig und 2 ml konz. Schwefelsäure 1 Stunde lang im Ölbad auf 130°C erhitzt. Die Lösung wurde in 100 ml Eiswasser gegossen, mit 2 n Natronlauge neutralisiert und dreimal mit je 100 ml Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherphasen wurden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Das erhaltene Rohprodukt reinigte man durch Kristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel.

Auf diese Weise wurden hergestellt:

2. 6-Dibrom-4-chloranilin:

aus VIII ; farblose Nadeln (aus Methanol/Wasser 1 + 1), Schmp. 93 - 94°C (Schmp. ⁹⁹⁾ Lit. : 92,9°C).

2. 6-Dibrom-3, 4-dichloranilin:

aus XI ; farblose Nadeln (aus Methanol/Wasser 4 + 1), Schmp. 112 - 114°C (Schmp. ¹⁰⁰⁾ Lit. : 109-111°C).

8. 15 - 19. Derivate der Anilide

8. 15. N-(2-Brom-4. 5-dichlorphenyl)-propionsäureamid (XIII)

Die Bromierung von N-(3. 4-Dichlorphenyl)-propionsäureamid (Propanil) nach Methode B und die Kristallisation aus Cyclohexan ergab farblose, verfilzte Nadelchen vom Schmp. 137-140°C.

$C_9H_8BrCl_2NO$ (297,0)	Ber. :	Br = 26,91 %	Cl = 23,87 %
	Gef. :	Br = 26,99 %	Cl = 23,84 %

8. 16. N-(2-Brom-5-chlor-4-methylphenyl)-2-methyl-
valeriansäureamid (XIV)

Die Bromierung von N-(3-Chlor-4-methylphenyl)-2-methylvaleriansäureamid (Pentanochlor) nach Methode A und die Kristallisation aus Methanol/Wasser (6 + 1) ergaben farblose, verfilzte Kristalle vom Schmp. 98 - 100°C.

$C_{13}H_{17}BrClNO$	(318,6)	Ber.:	Br = 25,09 %	Cl = 11,13 %
		Gef.:	Br = 25,34 %	Cl = 11,14 %

8. 17. N-(2,6-Dibrom-3-chlor-4-methylphenyl)-2-methyl-
valeriansäureamid (XV)

Bei der Bromierung von N-(3-Chlor-4-methylphenyl)-2-methylvaleriansäureamid (Pentanochlor) nach Methode B erhielt man nach Kristallisation aus Methanol/Wasser (5 + 1) ein farbloses Kristallpulver vom Schmp. 148-152°C.

$C_{13}H_{16}Br_2ClNO$	(397,4)	Ber.:	Br = 40,23 %	Cl = 8,92 %
		Gef.:	Br = 40,18 %	Cl = 9,10 %

8. 18. N-(2-Brom-4-chlorphenyl)-2,2-dimethyl-
valeriansäureamid (XVI)

Bei der Bromierung von N-(4-Chlorphenyl)-2,2-dimethylvaleriansäureamid (Monalide) nach Methode A entstanden durch Kristallisation aus Methanol/Wasser (6 + 1) farblose Blättchen vom Schmp. 57-59°C.

$C_{13}H_{17}BrClNO$	(318,6)	Ber.:	Br = 25,09 %	Cl = 11,13 %
		Gef.:	Br = 25,16 %	Cl = 11,01 %

8. 19. N-(2, 6-Dibrom-4-chlorphenyl)-2, 2-dimethyl-
valeriansäureamid (XVII)

Bei der Bromierung von N-(4-Chlorphenyl)-2, 2-dimethylvaleriansäureamid (Monalide) nach Methode B kristallisierten aus Methanol/Wasser (9 + 1) farblose Stäbchen vom Schmp. 132-133°C.

$C_{13}H_{16}Br_2ClNO$	(397, 6)	Ber.:	Br = 40, 20 %	Cl = 8, 92 %
		Gef.:	Br = 40, 26 %	Cl = 8, 74 %

8. 20. Derivat des Piperonylbutoxids

4, 5, 7-Tribrom-6-propyl-1, 3-benzodioxol (XVIII)

Zur Lösung von 1 g 5- [2-(2-Butoxyäthoxy) äthoxymethyl] -6-propyl-1, 3-benzodioxol (Piperonylbutoxid) in 100 ml Eisessig gab man 20 ml Brom/Jod (95 + 5). Nach 20 Minuten wurden 300 ml Natriumacetatlösung 30 % und 300 ml Natriumarsenitlösung 5 % zugegeben; die bräunliche Emulsion extrahierte man dreimal mit je 100 ml Methylenchlorid. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit n Natronlauge und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft.

Das braune, ölige Reaktionsprodukt reinigte man durch Chromatographie an einer Säule mit 5 g Florisil (5 % Wasser) mit 100 ml Petroläther als Elutionsmittel. Der Abdampfrückstand des Eluats, der kristallin erstarrte, ergab beim Kristallisieren aus Methanol farblose Blättchen vom Schmp. 76°C (Schmp. ¹¹⁹⁾ Lit. : 72-74°C).

$C_{10}H_9Br_3O_2$	(400, 93)	Ber.:	Br = 59, 80 %
		Gef.:	Br = 58, 98 %

8.21 - 26. Derivate der Säuren

8.21. Darstellung von Methylestern der Säuren

Die Lösung von 0,5 g bis 5 g einer Säure in 10 ml Methanol und 100 ml Äther wurde mit Diazomethanlösung ¹⁰¹⁾ bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Anschließend wurde sie mit 2n Salzsäure, 2n Natronlauge und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Auf diese Weise wurden folgende Methylester hergestellt:

1-Naphthylessigsäure-methylester:

farbloses Öl, $n_D^{25} = 1,5932$ (n_D^{25} ¹⁰²⁾ _{Lit.} = 1,5952) ;

2-Naphthoxyessigsäure-methylester:

farbloses Kristallpulver, Schmp. 76-77°C (aus Methanol)
(Schmp. ¹⁰³⁾ _{Lit.} = 75-77°C) ;

1-Brom-2-naphthoxyessigsäure-methylester:

farblose Kristalle vom Schmp. 76-77°C (aus Äthanol und aus Diisopropyläther), das Ausgangsmaterial stammte aus der Reaktion von 1-Brom-naphthol-(2) mit Chloressigsäure ¹⁰⁴⁾ ;

(4-Chlor-2-methyl-phenoxy)-essigsäure-methylester:

farbloses Öl, $n_D^{25} = 1,5245$;

4-(4-Chlor-2-methyl-phenoxy)-buttersäure-methylester:

farbloses Öl, $n_D^{25} = 1,5145$.

8. 22. (2-Brom-4-chlor-6-methyl-phenoxy)-essigsäure-
methylester (XIX)

Die Bromierung von (4-Chlor-2-methyl-phenoxy)-essigsäuremethylester (MCPA-methylester) nach Methode A ergab ein gelbes Öl, das nach einigen Stunden durchkristallisierte. Nach Abpressen auf einem Tonteller und Kristallisation aus Methanol/Wasser (5 + 2) erhielt man watteartig verfilzte Nadelchen vom Schmp. 63^o C.

$C_{10}H_{10}BrClO_3$	(293,6)	Ber.:	Br = 27,22 %	Cl = 12,08 %
		Gef.:	Br = 27,96 %	Cl = 12,24 %

8. 23. (2.5(?)-Dibrom-4-chlor-6-methyl-phenoxy)-
essigsäure-methylester

Bei der Bromierung von (4-Chlor-2-methyl-phenoxy)-essigsäure-methylester (MCPA-methylester) nach Methode B erhielt man ein gelbliches, festes Rohprodukt, aus dem durch Kristallisation aus 25 ml Methanol eine Substanz vom Schmp. 171-173^o C und RRT 340 (10 % SE-30, 200^o C) in Form farbloser, feiner Nadelchen abgetrennt wurde. Nach Eindampfen der Mutterlauge und Digerieren mit kaltem Methanol hinterblieb ein farbloser Rückstand, der beim Umkristallisieren aus 10 ml Methanol ein farbloses Kristallpulver vom Schmp. 102-105^o C und RRT 143 ergab.

$C_{10}H_9Br_2ClO_3$	(372,5)	Ber.:	Br = 42,92 %	Cl = 9,52 %
		Gef.:	Br = 43,73 %	Cl = 9,84 %

8. 24. 4-(2-Brom-4-chlor-6-methyl-phenoxy)-buttersäure-methylester (XX)

Die Umsetzung von 4-(4-Chlor-2-methyl-phenoxy)-buttersäure-methylester (MCPB-methylester) nach Methode A lieferte ein gelbes Öl. Es wurde an einer Säule mit 5 g Florisil (5 % Wasser) durch Elution mit 100 ml Petroläther gereinigt; man erhielt ein fast farbloses Öl mit $n_D^{20} = 1,5380$.

$C_{12}H_{14}BrClO_3$ (321,6) Ber.: Br = 24,85 % Cl = 11,03 %
Gef.: Br = 25,58 % Cl = 11,49 %

8. 25. 4-Brom-1-naphthylelessigsäure-methylester (XXI)

Die Lösung von 5 g 1-Naphthylelessigsäure-methylester in 200 ml Methylenchlorid blieb 2 Tage lang mit 5 g Brom/Jod (95 + 5) stehen. Dann wurde sie mit 2n Natronlauge und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Das zurückbleibende, gelbbraune Öl ($n_D^{25} = 1,6160$) wurde in 2 ml Methylenchlorid und 40 ml Petroläther gelöst und auf eine Säule mit 40 g Kieselgel (Merck, 0,2 - 0,5 mm) gegeben. Nach dem Auswaschen der Säule mit 100 ml Petroläther und 5 x 100 ml Petroläther/Aceton (9 + 1) erhielt man durch Elution mit 8 x 100 ml Petroläther/Aceton (8 + 2) ein rötliches Öl, das bald kristallin erstarrte. Bei zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol erhielt man farblose Nadeln vom Schmp. 64 - 66°C (Schmp. ¹⁰⁵ Lit. : 68°C).

8. 26. 1-Brom-2-naphthoxyessigsäure-methylester (XXII)

Zur Lösung von 1,08 g (5 mMol) 2-Naphthoxyessigsäure-methylester in 100 ml Methylenchlorid gab man die Lösung von 0,80 g (5 mMol) Brom in 100 ml Methylenchlorid. Nach 5 Minuten wurde die fast entfärbte Mischung mit 2 n Natronlauge und Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und i. V. zur Trockene eingedampft. Das Rohprodukt wurde nacheinander aus Methanol, Äthanol und Diisopropyläther umkristallisiert und ergab farblose Kristalle vom Schmp. 74 - 75°C. Sie schmolzen im Gemisch mit dem Produkt, das durch Methylierung von 1-Brom-2-naphthoxyessigsäure erhalten wurde, bei 75 - 76°C.

80,4 mg Substanz: Verbrauch 0,1 n AgNO₃ - Lösung (F = 1,021)
= 2,65 ml .

C ₁₃ H ₁₁ BrO ₃ (295,1)	Ber.: Br = 27,08 %
	Gef.: Br = 27,19 %

8. 27 - 31. Derivate der N-Methylcarbamate

8. 27. 4-Bromnaphthyl (1)-N-methylcarbamate (XXIII)

Die Lösung von 1 g 1-Naphthyl-N-methylcarbamate (Carbaryl) in 100 ml Eisessig/Natriumacetat (95 + 5) ließ man mit 1 ml Brom 5 Minuten lang stehen. Beim Eingießen in eine Mischung aus 300 ml Natriumacetatlösung 20 % , 50 ml Natriumarsenitlösung 5 % und 500 ml Wasser entstand eine bräunliche Fällung, die abgenutscht wurde und beim Kristallisieren aus 200 ml Cyclohexan 0,75 g schwach rosafarbene Nadeln vom Schmp. 148-150°C ergab.

100 mg des Produktes ließ man mit 5 ml 0,1 n methanolischer Natronlauge 5 Minuten lang stehen, verdünnte die Lösung mit 50 ml Wasser und 5 ml 2 n Salzsäure und schüttelte mit 20 ml Methylenchlorid aus. Nach dem Trocknen des Methylenchlorids mit wasserfreiem Natriumsulfat und Abdampfen des Lösungsmittels i. V. hinterblieb ein farbloser Rückstand, der beim Umkristallisieren aus 1 ml Cyclohexan farblose, lange und dünne Nadeln vom Schmp. $124-125^{\circ}\text{C}$ lieferte.

Schmp. ¹⁰⁶⁾ Lit. für 4-Brom-naphthol-(1) : $127-128^{\circ}\text{C}$.

8. 28. 2. 4-Dibrom-3. 5-dimethylphenyl-N-methylcarbamate (XXIV)

Die Bromierung von 0,25 g 4-Mercaptomethyl-3. 5-dimethylphenyl-N-methylcarbamate (Mercaptodimethur) nach Methode A und das Umkristallisieren des Rohproduktes aus Methanol/Wasser (2 + 1) lieferten 0,1 g farblose, verfilzte Nadelchen vom Schmp. $131-132^{\circ}\text{C}$ (Schmp. ¹¹⁵⁾ Lit. : $136-137^{\circ}\text{C}$).

$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{Br}_2\text{NO}_2$ (337, 0) Ber.: Br = 47,43 %
Gef.: Br = 47,68 %

8. 29. 2. 4. 6-Tribrom-3. 5-dimethylphenyl-N-methylcarbamate (XXV)

0,5 g 4-Mercaptomethyl-3. 5-dimethylphenyl-N-methylcarbamate (Mercaptodimethur) lieferten bei der Bromierung nach Methode B 0,7 g eines farblosen Rückstandes. Die Kristallisation aus 20 ml Eisessig ergab 0,6 g farbloser Nadeln vom Schmp. $250-255^{\circ}$ (Zers.). (Schmp. ¹¹⁵⁾ Lit. : 247° (Zers.)).

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Br}_3\text{NO}_2$ (415, 9) Ber.: Br = 57,64 %
Gef.: Br = 57,70 %

9. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) **W e g l e r, R.** (Herausgeber),
Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Band I und II,
Berlin - Heidelberg - New York 1970.
- 2) Pflanzenschutzgesetz vom 10.5.1968 (BGBl. I, S. 352),
zuletzt geändert am 25.6.1969 (BGBl. I, S. 645).
- 3) Pflanzenschutzmittel-Verzeichnis 1969.
Merkblatt Nr. 1 der Biologischen Bundesanstalt für Land-
und Forstwirtschaft in Braunschweig, 22. Aufl., April 1969.
- 4) **M a i e r - B o d e, H.**,
Pflanzenschutzmittel-Rückstände (Insektizide),
Stuttgart 1965.
- 5) **M a i e r - B o d e, H.**,
Herbizide und ihre Rückstände,
Stuttgart 1971.
- 6) Verordnung über Pflanzenschutz-, Schädlingsbekämpfungs- und
Vorratsschutzmittel in oder auf Lebensmitteln pflanzlicher
Herkunft (Höchstmengen-VO-Pflanzenschutz) vom 30.11.1966
(BGBl. I S. 667).
- 7) Verordnung über diätetische Lebensmittel vom 20.6.1963
(BGBl. I S. 415), zuletzt geändert am 22.12.1965
(BGBl. I S. 2140); § 14 Abs. 1 Nr. 1.
- 8) Methodensammlung zur Rückstandsanalytik von Pflanzenschutz-
mitteln. Mitteilung VI der Kommission für Pflanzenschutz-,
Pflanzenbehandlungs- und Vorratsschutzmittel der Deutschen
Forschungsgemeinschaft,
Weinheim 1969.
- 9) **Z w e i g, G.** (Herausgeber),
Analytical methods for pesticides, plant growth regulators
and food additives, Bd. I - V,
New York - London 1963-1967.
- 10) **F r a n c k, R.**, und **G. B r e s s a u**,
in Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. II/2,
Berlin - Heidelberg - New York 1967, S. 977.
- 11) Official Methods of Analysis of the Association of Official
Analytical Chemists,
11. Aufl., Washington 1970, Kapitel 29.

- 12) Méthodes officielles de recherche des résidus de pesticides,
J. off. Républ. Franç., No. 68-191, 3.12.1968.
- 13) Zur Rückstandsanalytik der Pestizide in Lebensmitteln.
1. Empfehlung der Arbeitsgruppe "Pestizide" vom 1.3.1971.
Mitt. GDCh-Fachgr. Lebensmittelchemie 25, 129 (1971).
- 14) Delley, R., K. Friedrich, B. Karlhuber,
G. Székely und K. Stambach,
Z. analyt. Chem. 228, 23 (1967).
- 15) Baunok, I., und H. Geissbühler,
Bull. Environment. Cont. Toxicol. 3, 7 (1968).
- 16) Onley, J.H., und G. Yip,
J. Assoc. off. anal. Chemists 52, 526 (1969).
- 17) Ebing, W.,
Gaschromatographie der Pflanzenschutzmittel
(Tabellarische Literaturreferate).
Mitt. Biol. Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft,
Heft 138, Berlin 1970.
- 18) Boots Pure Drug Co. (Erf. D. Greenwood und H.A. Stevenson),
US-Pat. 2770568 vom 13.11.1956;
ref. C.A. 51, 6937 c (1957).
- 19) Slagh, H.R., und E.C. Britton,
J. Amer. chem. Soc. 72, 2808 (1950).
- 20) Deutsches Arzneibuch, 7. Ausgabe,
Stuttgart - Frankfurt 1968, S. 473.
- 21) Tarter, G., und Mitarb.,
Wiss. Z. Ernst-Moritz-Arndt- Univ. Greifswald,
Math. nat. Reihe 15, 85 (1966);
ref. C.A. 70, 37331 (1969).
- 22) Columbia-Southern Chem. Corp. (Erf. F. Strein),
US-Pat. 2734911 vom 14.2.1956;
ref. C.A. 50, 10769 i (1956).
- 23) FMC Corp. (Erf. J.R. Willard und K.P. Dorschner),
Belg. Pat. 612 550 vom 31.1.1962;
ref. C.A. 57, 12948 b (1962).
- 24) Moldavan-Velniceriu, A., und T. Mihaiu,
Rumän. Pat. 48811 vom 5.9.1967;
ref. C.A. 69, 35682 (1968).
- 25) BASF (Erf. G. Steinbrunn), Dtsch. Pat. 1127344 vom 12.4.1962;
ref. C.A. 57, 9741 h (1962).

- 26) Allied Chem. Corp. (Erf. E.E. Gilbert und E.J. Rumanowski),
Franz. Pat. 1320068 vom 8.3.1963;
ref. C.A. 59, 9886 g (1963).
- 27) Farbwerke Hoechst AG. (Erf. O. Scherer und G. Hörlein),
Dtsch. Pat. 1140925 vom 13.12.1962;
ref. C.A. 59, 13881 h (1963).
- 28) Scherer, O., G. Hörlein und K. Härtel,
Angew. Chem. 75, 851 (1963).
- 29) CIBA Ltd., Franz. Pat. 1325926 vom 3.5.1963;
ref. C.A. 59, 11512 h (1963).
- 30) Huffman, C.W., und S.E. Allen,
J. agric. Food Chem. 8, 298 (1960).
- 31) Chemagro Corp. (Erf. K.H. Rattenbury, E.R. Levy und
A.H. Zakaryan), US-Pat. 3074946 vom 22.1.1963;
ref. C.A. 59, 8765 f (1963).
- 32) Murphy Chem. Corp. (Erf. M. Pianka und D.J. Polton),
US-Pat. 3234082 vom 8.2.1966;
ref. C.A. 64, 15798 h (1966).
- 33) Farbwerke Hoechst AG. (Erf. O. Scherer, K. Reichner und
L.F. Emmel), US-Pat. 3123522 vom 3.3.1964;
ref. C.A. 61, 15287 e (1964).
- 34) Austen, P.T., und F.S. Smith,
Amer. chem. J. 8, 90; ref. C. 1886, 820.
- 35) Raiford, L.C., G.W. Thiessen und I.J. Wernert,
J. Amer. chem. Soc. 52, 1205 (1930).
- 36) Eli Lilly & Co. (Erf. Q.F. Soper),
US-Pat. 3257190 vom 21.6.1966;
ref. C.A. 65, 13606 e (1966).
- 37) Carpenter, K., und Mitarb.,
Weed Res. 4, 175 (1964);
ref. C.A. 63, 2923 g (1965).
- 38) Staudinger, H.,
Ber. dtsch. chem. Ges. 39, 3062 (1906).
- 39) Spitzer, F.,
Ber. dtsch. chem. Ges. 34, 3191 (1901).
- 40) Frehse, H., und H. Niessen,
Z. analyt. Chem. 192, 94 (1963).
- 41) Jones, L.R., und J.A. Riddick,
Anal. Chem. 24, 569 (1952).

- 42) Thier, H.P., und K.G. Bergner,
Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 62, 399 (1966).
- 43) Storherr, R.W., P. Ott und R.R. Watts,
J. Assoc. off. anal. Chemists 54, 513 (1971).
- 44) Becker, G.,
Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 67, 125 (1971).
- 45) Nelson, R.C.,
J. Assoc. off. anal. Chemists 49, 763 (1966).
- 46) Morley, H.V.,
Residue Reviews 16, 1 (1966).
- 47) McLeod, H.A., C. Mendoza, P. Wales und
W.P. McKinley,
J. Assoc. off. anal. Chemists 50, 1216 (1967).
- 48) Moats, W.A.,
J. Assoc. off. agric. Chemists 46, 172 (1963).
- 49) Coffin, D.E., und G. Savary,
J. Assoc. off. agric. Chemists 47, 875 (1964).
- 50) Hoskins, W.M., W.R. Erwin und R. Miskus,
J. agric. Food Chem. 6, 914 (1958).
- 51) Burchfield, H.P., und D.E. Johnson,
Guide to the Analysis of Pesticide Residues,
Washington 1965, Bd. I.
- 52) Devine, J.M., und G. Zweig,
J. Assoc. off. anal. Chemists 52, 187 (1969).
- 53) Smith, M., H. Suzucki und M. Malina,
J. Assoc. off. agric. Chemists 48, 1164 (1965).
- 54) Yip, G., und S.F. Howard,
J. Assoc. off. anal. Chemists 51, 24 (1968).
- 55) Gutenmann, W.H., und D.J. Lisk,
J. agric. Food Chem. 11, 304 (1963).
- 56) Pursley, P.L., und E.D. Schall,
J. Assoc. off. agric. Chemists 48, 327 (1965).
- 57) Scoggins, J.E., und C.H. Fitzgerald,
J. agric. Food Chem. 17, 156 (1969).
- 58) Burke, J.A.,
J. Assoc. off. agric. Chemists 48, 1037 (1965).

- 59) Burke, J.A., und W. Holswade,
J. Assoc. off. anal. Chemists 49, 374 (1966).
- 60) Kovacs, M.F.,
J. Assoc. off. agric. Chemists 46, 884 (1963);
48, 1018 (1965).
- 61) Bäumler, J., und S. Rippstein,
Helv. chim.Acta 44, 1162 (1961).
- 62) Machbert, G.,
Diss. Erlangen 1970.
- 63) Sternersen, J.,
J. Chromatogr. 38, 538 (1968).
- 64) Watts, R.R.,
J. Assoc. off. agric. Chemists 48, 1161 (1965).
- 65) Stahl, E.,
Dünnschichtchromatographie, 2. Aufl.,
Berlin-Heidelberg-New York 1967, S.825, Reagens 65.
- 66) Zielinski, W.L., und L. Fishbein,
J. Gas Chrom. 3, 333 (1965).
- 67) Fishbein, L., und W.L. Zielinski,
Chromatographia 2, 38 (1969).
- 68) Fishbein, L., und W.L. Zielinski,
J. Chromatogr. 20, 9 (1965).
- 69) Crosby, D.G., und J.B. Bowers,
J. agric. Food Chem. 16, 839 (1968).
- 70) Cohen, J.C., und B.B. Wheals,
J. Chromatogr. 43, 233 (1969).
- 71) Gutenmann, W.H., und D.J. Lisk,
J. agric. Food Chem. 12, 46 (1964).
- 72) Gutenmann, W.H., und D.J. Lisk,
J. Gas Chrom. 4, 424 (1966).
- 73) Bache, C.A., D.J. Lisk und M.A. Loos,
J. Assoc. off. agric. Chemists 47, 348 (1964).
- 74) Root, G.A.,
Privatmitt., zit. A.W. Davidson,
J. Assoc. off. anal. Chemists 53, 179 (1970).
- 75) Gutenmann, W.H., und D.J. Lisk,
J. Assoc. off. agric. Chemists 47, 353 (1964).

- 76) Archer, T.E.,
Bull. Environment. Contam. Toxicol. 1, 172 (1966).
- 77) Gutemann, W.H., und D.J. Lisk,
J. Assoc. off. agric. Chemists 46, 859 (1963).
- 78) Thier, H.P.,
Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 66, 393 (1970).
- 79) Ebing, W.,
Chimia (Aarau) 19, 501 (1965).
- 80) Strother, A.,
J. Gas Chrom. 6, 110 (1968).
- 81) Tilden, R.L., und C.H. van Middeltem,
J. agric. Food Chem. 18, 154 (1970).
- 82) Holden, E.R., W.M. Jones und M. Beroza,
J. agric. Food Chem. 17, 56 (1969).
- 83) Argauer, R.J.,
J. agric. Food Chem. 17, 888 (1969).
- 84) Butler, L.I., und L.M. McDonough,
J. agric. Food Chem. 16, 403 (1968).
- 85) Bowman, M.C., und M. Beroza,
J. Assoc. off. anal. Chemists 50, 926 (1967).
- 86) Ralls, J.W., und A. Cortes,
J. Gas Chrom. 2, 132 (1964).
- 87) van Middeltem, C.H., T.L. Norwood und R.E. Waite,
J. Gas Chrom. 3, 310 (1965).
- 88) Gutemann, W.H., und D.J. Lisk,
J. agric. Food Chem. 13, 48 (1965).
- 89) Sullivan, L.J., J.M. Elridge und J.B. Knaak,
J. agric. Food Chem. 15, 927 (1967).
- 90) Abbott, D.C., J.A. Bunting und J. Thomson,
Analyst 90, 356 (1965).
- 91) Jatzkewitz, H.,
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 292, 94 (1953).
- 92) Ebing, W.,
Chimia (Aarau) 21, 132 (1967).
- 93) Delfel, N.E.,
J. agric. Food Chem. 14, 130 (1966).

- 94) Beroza, M.,
J. agric. Food Chem. 11, 51 (1963).
- 95) Yip, G., und S.F. Howard,
J. Assoc. off. anal. Chemists 49, 1166 (1966).
- 96) Baskakov, Y.A., und N.N. Mel'nikov,
Zhur. Obshchei Khim. 24, 376 (1954);
ref. C.A. 48, 8465 a (1954).
- 97) Dennstedt, M.,
Ber. dtsh. chem. Ges. 13, 228 (1880).
- 98) Price, C.C., und B.H. Velzen,
J. org. Chem. 12, 386 (1947).
- 99) Gilbert, E.C.,
J. Amer. chem. Soc. 48, 2242 (1926).
- 100) Imperial Chem. Ind. (Erf. W.S. Waring),
Brit. Pat. 895395 vom 2.5.1962;
ref. C.A. 57, 13674 c (1962).
- 101) Organikum, 5. Aufl., Berlin 1965, S. 528.
- 102) Adkins, H., und E.E. Burgoyne,
J. Amer. chem. Soc. 71, 3528 (1949).
- 103) Templeman, W.G., und W.A. Sexton,
Proc. Roy. Soc. (London) B 133, 300 (1946);
ref. C.A. 40, 7491 (1946).
- 104) Nametkin, S.S., N.N. Mel'nikov und
Y.A. Baskakov,
Zhur. Obshchei Khim. 18, 2019 (1948);
ref. C.A. 43, 3813 g (1949).
- 105) Kiprianov, A.I., und A.A. Shulezhko,
Zhur. Org. Khim. 2, 1852 (1966);
ref. C.A. 66, 47297 (1967).
- 106) Reverdin, F., und H. Kauffmann,
Ber. dtsh. chem. Ges. 28, 3049 (1895).
- 107) Hahn, H.,
Privatmitteilung 1971.
- 108) Sans, W.W.,
J. agric. Food Chem. 15, 192 (1967).
- 109) Glotfelty, D.E., und J.H. Caro,
Anal. Chem. 42, 282 (1970).

- 110) Lee, D.F., J. Britton, B. Jeffcoat und
R.F. Mitchell,
Nature 211, 521 (1966).
- 111) Acker, L., und E. Schulte,
Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 66, 385 (1970).
- 112) Armour, J.A., und J.A. Burke,
J. Assoc. off. anal. Chemists 53, 761 (1970).
- 113) Pearson, J.R., F.D. Aldrich und A.W. Stone,
J. agric. Food Chem. 15, 938 (1967).
- 114) Owen, J., und J.L. Simonsen,
J. chem. Soc. (London) 1931, 3001;
ref. C. 1932 I, 2949.
- 115) Konishi, K.,
Takeda Kenkyusho Nempo 24, 240 (1965);
ref. C.A. 64, 8077 c (1966).
- 116) Ackermann, H.,
Nahrung 10, 273, 612 (1966);
J. Chromatogr. 36, 309 (1968).
- 117) Stijve, T., und E. Cardinale,
Mitt. Gebiete Lebensmittel-Unters. Hyg. (Bern)
62, 25 (1971).
- 118) Krause, C., und J. Kirchhoff,
Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 66, 194 (1970).
- 119) Hoering, P.,
Ber. dtsh. chem. Ges. 40, 1096 (1907).
- 120) Baetz, R.A.,
J. Assoc. off. agric. Chemists 47, 322 (1964).
- 121) Mills, P.A., J.H. Onley und R.A. Gaither,
J. Assoc. off. agric. Chemists 46, 186 (1963).

LEBENS LAUF

3. 7. 1937 Geboren in Göttingen als Sohn des Apothekers
Hans Thier und seiner Ehefrau Emilie, geb. Rheinisch.
- 1943 - 1954 Schulbesuch in Breslau, Mittelwalde/Schlesien,
Rückersdorf/Mfr. und Nürnberg.
13. 7. 1954 Abitur am Realgymnasium in Nürnberg.
1. 10. 1954 -
30. 9. 1956 Apothekerpraktikant in der Hirsch-Apotheke in Nürnberg;
pharmazeutische Vorprüfung.
- W.S. 1956/57
- S.S. 1959 Studium der Pharmazie in Erlangen und Freiburg/Br.
30. 9. 1959 Pharmazeutische Staatsprüfung in Freiburg/Br.
- W.S. 1959/60
- S.S. 1961 Vorprüfung für Lebensmittelchemiker und Studium der
Lebensmittelchemie in Erlangen.
11. 9. 1961 Staatliche Hauptprüfung für Lebensmittelchemiker.
31. 10. 1961 Approbation als Apotheker.
1. 11. 1961
- 30. 4. 1965 Wiss. Hilfskraft, Verwalter einer Assistentenstelle
und wiss. Assistent am Institut für Angewandte Chemie
der Universität Erlangen-Nürnberg.
15. 6. 1964 Promotion zum Dr. rer. nat.
23. 4. 1965 Eheschließung mit Fräulein Ursula Lemke, Apothekerin,
aus Rummelsburg/Pommern.
15. 5. 1965
- 31. 12. 1966 Lebensmittelchemiker an der Chemischen Landesunter-
suchungsanstalt Stuttgart.
15. 1. 1967
- 15. 7. 1967 Lebensmittelchemiker im Forschungslaboratorium für
Nestlé-Produkte (Afico S.A.) in La Tour-de-Peilz
(Vaud, Schweiz).
- Ab 1. 9. 1967 Wiss. Assistent am Institut für Angewandte Chemie
der Universität Erlangen-Nürnberg.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990